



Développements d'échantillonneurs passifs pour l'étude de la contamination des eaux par les micropolluants organiques

Perrine Wund

► To cite this version:

Perrine Wund. Développements d'échantillonneurs passifs pour l'étude de la contamination des eaux par les micropolluants organiques. Autre. Université Sciences et Technologies - Bordeaux I, 2013. Français. NNT : 2013BOR14966 . tel-01124153

HAL Id: tel-01124153

<https://theses.hal.science/tel-01124153>

Submitted on 6 Mar 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre : 4966



THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par **Perrine WUND**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : Chimie analytique et environnement

Développements d'échantillonneurs passifs pour l'étude de la contamination des eaux par les micropolluants organiques

Directrice de recherche : Hélène BUDZINSKI

Soutenue le : 9 décembre 2013

Devant la commission d'examen formée de :

M. ALLAN, Ian John	Chercheur, Norwegian Institute for Water Research	Rapporteur
M. MOUCHEL, Jean-Marie	Professeur, Université Pierre et Marie Curie	Rapporteur
M. MAZELLIER, Patrick	Professeur, Université Bordeaux 4	Président du jury
Mme MIEGE, Cécile	Ingénieur de recherche, IRSTEA	Examineur
Mme PICHON, Valérie	Professeur, ESPCI	Examineur
Mme BUDZINSKI, Hélène	Directrice de recherche, Université Bordeaux 1	Directrice de thèse
Mme LEROY, Gaëla	Chercheur, VERI	Encadrant industriel

Affiliations

Ces travaux de thèse ont été menés à la fois au Laboratoire de Physico- et Toxico- Chimie de l'environnement (LPTC) et chez Veolia Environnement Recherche & Innovation (VERI) dont les adresses sont détaillées ci-dessous.

Laboratoire de Physico- et Toxico- Chimie de l'environnement
Université Bordeaux 1
EPOC – UMR 5805 CNRS
Batiment A12, 2^{ème} étage Ouest
351 cours de la Libération
33405 TALENCE

Veolia Environnement Recherche & Innovation
Immeuble « Le Dufy »
1 Place de Turenne
94417 SAINT MAURICE

Résumé

Préserver les ressources en eau est l'une des problématiques environnementales majeures du 21^e siècle. Pour faire face à cette nécessité, il est essentiel de mettre en place une surveillance réglementée de la qualité des eaux et des rejets se déversant dans le milieu aquatique et de développer de nouveaux outils d'échantillonnage. L'échantillonnage ponctuel est la technique la plus facile à mettre en œuvre. Toutefois, elle n'est pas toujours représentative d'un milieu hétérogène parfois soumis à des variabilités spatiales et temporelles importantes. L'échantillonnage passif, notamment avec l'outil POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler), est une approche complémentaire aux techniques traditionnelles, qui permet de concentrer des molécules organiques semi-polaires directement sur site. La pertinence du résultat obtenu (la concentration moyennée sur la durée d'exposition), couplée à la simplicité de sa mise en œuvre en font *a priori* un outil de choix pour suivre des hydrosystèmes complexes.

Dans ce contexte, des familles des composés diversifiées ont été sélectionnées : pesticides, composés pharmaceutiques, hormones stéroïdiennes et composés perfluorés. Au sein de chaque famille, plusieurs composés traceurs, présents dans l'environnement, comportant des propriétés physico-chimiques variées et aux statuts réglementaires différents (Directive Cadre sur l'Eau notamment), ont été choisis.

Des essais d'optimisation de design du POCIS (quantité et nature de phase réceptrice, nature de la membrane) ont été conduits, menant à la validation de la configuration classique dans le cas général. L'influence de différents paramètres environnementaux pertinents : débit, température, matrice, présence de biofilm et dispositif de déploiement a été évaluée lors de calibrations de l'outil réalisées dans des systèmes de complexité croissante : au laboratoire, sur pilote et sur site.

Les différents déploiements sur site (effluent de STEP et rivière) ont permis de valider l'utilisation de cet outil de prélèvement passif dans le cadre d'un suivi environnemental. Le potentiel du POCIS a été pleinement confirmé, tant en termes de logistique que de résultats (justesse par rapport aux concentrations mesurées par des techniques classiques, intégration d'événements ponctuels, limite de quantification...).

Mots-clés

Echantillonnage passif, POCIS, taux d'échantillonnage, micropolluants organiques, micropolluants émergents, station d'épuration

Abstract

The protection of water resources is one of the major environmental stakes of 21st century. Regulation concerning water quality and effluents is therefore definitely needed, as well as new approaches regarding water sampling. Spot sampling is the easiest strategy. However, it may not be representative of a heterogeneous matrix, with sometimes important spatial and temporal variability. Passive sampling, including POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) is a complementary approach, which enables an on-site pre-concentration of semi-polar organic compounds. The relevance of the result (time-weighted average concentrations) and the ease to implement POCIS make it an appropriate tool to monitor complex hydrosystems.

Within this work, various compound classes were selected: pesticides, pharmaceuticals, steroid hormones and perfluorinated compounds. Among each family, several tracer molecules, widely encountered in the environment, with different physic-chemical properties and regulatory status (particularly in the Water Framework Directive), were chosen.

POCIS design optimization (amount and nature of sorbent, nature of membrane) was carried out, leading to the validation of the standard configuration for general purposes. The impact of different relevant environmental parameters (flow-rate, temperature, matrix, biofouling and deployment device), was assessed during calibrations of POCIS conducted in systems of increasing complexity: in the laboratory, at pilot-scale and on-site.

All on-site deployments (WWTP effluent and river) enabled to validate the use of this passive sampling tool in the framework of an environmental monitoring. The potential of this tool was fully confirmed, both logistically and in terms of results (trueness compared to concentrations measured with traditional techniques, integration of punctual events, quantification limit...).

Keywords

Passive sampling, POCIS, sampling rate, organic micropollutants, emerging micropollutants, wastewater treatment plant

Remerciements

Ce manuscrit de thèse est le résultat de la contribution d'une multitude de personnes que je souhaite ici remercier.

Je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury pour le temps et l'attention qu'ils ont consacré à ce travail et les échanges constructifs lors de la soutenance. Merci à M. Ian Allan (Norwegian Institute for Water Research) et à M. Jean-Marie Mouchel (Université Pierre et Marie Curie) d'avoir jugé ce travail en tant que rapporteurs. Merci à Mme Cécile Miège (IRSTEA) et à Mme Valérie Pichon (ESPCI) d'avoir participé à ce jury en tant qu'examinatrices. Enfin merci à M. Patrick Mazellier d'avoir présidé le jury lors de la soutenance.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Hélène Budzinski et Gaëla Leroy qui ont dirigé cette thèse. Ces trois ans m'ont permis d'être plongée dans deux univers très différents - ce qui a d'ailleurs rendu cette thèse si enrichissante ! Je vous suis très reconnaissante de toutes les opportunités de congrès et de déplacements qui ont jalonné mon parcours : depuis le poster présenté à Cracovie en 2011 dont les résultats avaient été obtenus quelques jours seulement avant le départ, jusqu'à un oral en anglais au même congrès, deux ans plus tard, suivi d'échanges avec les spécialistes du domaine. Entre les deux c'est peu dire si j'ai progressé, en anticipation et en organisation notamment !

Merci infiniment pour toutes les possibilités scientifiques et matérielles dont j'ai eu la chance de bénéficier : de l'importante antériorité sur l'échantillonnage passif au sein du LPTC (merci au passage à mes prédécesseurs dans ce domaine !), jusqu'à la possibilité de mettre au point un pilote dédié à nos essais sur des plate-formes de VERI, en passant par l'expertise en chimie analytique ou les déploiements sur sites. En trois ans, ce ne sont pas moins de 40.600 km (soit un peu plus que le tour du monde !) qui ont été parcourus en train entre Paris et Bordeaux afin de pouvoir aboutir à ce manuscrit.

Un grand merci collectif pour tout cela, car ce fut une aventure collective. Et plus individuellement :

Hélène, merci pour ta confiance, tes conseils et ta vision si enrichissants. Ton professionnalisme doublé de la passion qui t'anime ont été des éléments moteurs pour moi. J'ai beaucoup appris à tes côtés et je me souviendrai longtemps des discussions que nous avons eues.

Gaëla, je te remercie pour la rigueur que tu m'as transmise, indispensable à tout travail scientifique. Un grand merci pour ton soutien et ta disponibilité : pour dépanner le Quantum quand j'avais épuisé tous les recours connus, pour décrypter une procédure obscure ou même pour transporter un congélateur par-delà nos frontières, tu as répondu présente.

Valérie, merci pour ta confiance, ton intérêt pour ce projet et ta réactivité pour relire les rapports et articles.

Un grand merci à tous les membres du LPTC pour leur contribution active à ces travaux. Je remercie Karyn pour m'avoir accompagnée tant de fois à la cave pour chercher des composés standard. Je n'oublie pas que c'est toi qui m'as formée à la SPE, ton professionnalisme a été un exemple. Merci Patrick pour ton aide et ta disponibilité pour tous les développements en LC-MS/MS, notamment la saga des hormones. Merci à Pierre L. et Marie-Hélène pour les discussions partagées. Merci à Sylvie, Laurent, Pierre VD, Mohamed, Patrick P. et Maylis pour leur aide et leur implication dans la vie quotidienne du laboratoire. Merci à Nathalie T., Angel et Manu pour leurs conseils pratiques qui ont parfois sauvé une calibration !

Une pensée aux doctorants croisés en début de thèse : Marion-Justine, Amélie, Nicolas C, Janos, Salomé, et aussi à la relève : Nathalie D, Gabriel, Maximilien, Geoffroy, Laura, Mathilde, Vincent (merci encore pour ton aide et les litres d'eau épongés lors de la calibration « température » !).

Je souhaite remercier les doctorants, post-doc et contractuels du LPTC, passés et présents, avec qui j'ai passé des moments privilégiés : pendaisons et dépendaisons de crémaillères, sortie canoë, soirées raclette ou barbecue, ou simplement un café au 3^{ème} ou un verre à la Parcelle. Yann, Caroline GP, Coralie, Angel, Ninette, Jonathan, Julie, Justine, Hugues, Hoi, Baptiste, Caroline M., Thomas, Nicolas, Sébastien, Rami.....Grâce à vous tous, Bordeaux restera aussi associée à d'inoubliables moments de convivialité. Belle route à tous !

Un grand merci à toutes les personnes de VERI qui ont contribué directement à la réalisation et à l'aboutissement de l'étude : Denis Jacquin, Philippe Rey et les personnes de l'atelier pour la conception et la réalisation du pilote, Jérôme Chartier et Thomas Thouvenot pour les travaux de modélisation, Sophie Bourlet et Guillaume Scherpereel pour les prélèvements et la surveillance rapprochée du pilote, et évidemment Delphine Brillant et Patricia Mivelaz, les deux techniciennes en or qui m'ont apporté une aide immense pour la préparation d'échantillons (et les sessions de pagayage dans le charbon actif !).

Une pensée pour toute l'équipe AIC (Analyse Innovation Chimie), et en particulier les personnes du site de Saint-Maurice. Même si j'avais déjà fait de nombreux séjours parmi vous, la fin de thèse passée à temps complet dans l'équipe m'a permis de mieux vous connaître. Merci pour la bienveillance avec laquelle j'ai été accueillie, et merci pour toutes les discussions qui m'ont rappelé qu'il y a une vie à côté de la thèse : bons plans sorties à Paris, cinéma, cuisine... Véronique, Lauriane, Mathilde, Gaëla, Delphine, Patricia, merci pour tout cela. J'adresse aussi mes remerciements à toutes les personnes de l'équipe basées à Maisons-Laffitte pour leur accueil chaleureux lors de chacun de mes passages : Christophe, Faten, Dalel, Emilie, Sterenn (merci pour le reboostage final !) et Elena. Bon courage à Marine, représentante de la « nouvelle génération ».

Sans le support, notamment logistique, des exploitants des deux stations d'épuration étudiées lors de ces travaux, tout le volet « application sur site » n'aurait pas pu être si riche. Qu'ils soient ici remerciés pour leur intérêt porté à l'étude et leur aide.

Je tiens également à remercier tous ceux qui ont pris de leur temps pour m'aider à faire progresser la réflexion autour de ce travail : Branislav Vrana, Etienne Vermeirssen, David Benanou, Frederic Leusch et Claire Machinal.

Un parcours se construit grâce à des rencontres, et deux maîtres de stage ont joué un rôle déterminant dans mon orientation vers la recherche et l'environnement : Jan H. Christensen (Copenhagen University) et Marion Crest (Centre International de Recherche Sur l'Eau et l'Environnement). Je leur adresse mes plus sincères remerciements pour toutes les discussions que nous avons eues et qui m'ont guidée vers cette voie.

Enfin, sur un plan plus personnel, merci à tous mes amis. Stéphanie, fidèle depuis notre classe de sixième ; Marion, pour tous ces kilomètres parcourus sur les roulettes ; tous mes amis de l'ENSCM et leurs moitiés : Fabien, Delphine, Joévin, Hélène, Clément, Nonoc, Mehdi, Sindy, Thomas et Julien.

Une pensée pour toute ma famille qui a suivi cette aventure : mes parents, mon frère et ma sœur, mes grands-parents, mes oncles et tantes, mes cousins et ma marraine. Merci infiniment à mes parents qui m'ont toujours fait confiance et soutenue, quels que soient mes choix et l'éloignement

géographique associé. Je vous ai fait découvrir de chouettes coins en France, n'est-ce-pas ?! Merci à mon frère et à ma soeur de s'être intéressés à ce travail même si c'est assez distant de leurs domaines d'intérêt. J'embrasse mes grands-mères pour l'amour et l'expérience de la vie qu'elles m'ont transmis. Merci aussi à Raphaëlle et André pour les dimanches après-midis si agréables en compagnie de vos deux princesses.

Un immense merci à Florent d'avoir partagé cette aventure avec moi, entre Bordeaux, Ottawa, Toulouse et Paris. Merci de m'avoir reboostée lors des périodes de creux et merci pour les moments heureux partagés et à venir !

INTRODUCTION GENERALE	27
CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	33
1. Contexte règlementaire	35
2. Composés étudiés.....	39
2.1 Les pesticides	39
2.2 Les composés pharmaceutiques	46
2.3 Les hormones stéroïdiennes	50
2.4 Les composés perfluorés (PFC)	53
2.5 Bilan	56
3. Stratégies d'échantillonnage.....	59
3.1 Echantillonnage ponctuel	59
3.2 Echantillonnage moyenné	60
3.3 Utilisation d'organismes biologiques	60
3.4 Echantillonnage passif.....	61
4. Types d'échantillonneurs passifs existants.....	65
4.1 Le SPMD (Semi-Permeable Membrane Device)	65
4.2 Le disque Empore®	66
4.3 Le Chemcatcher®	66
4.4 Le silicone (PDMS).....	69
4.5 Autres types d'échantillonneurs passifs	70
5. Le POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler)	71
5.1 Conception du POCIS	71
5.2 Transfert vers la phase adsorbante	72
5.3 Classes de composés ciblés et matrices échantillonnées	73
5.4 Détermination des taux d'échantillonnage	73
5.5 Influence des conditions environnementales	84
5.6 Relation entre taux d'échantillonnage et propriétés physico-chimiques	99
5.7 Influence des caractéristiques du POCIS	100
5.8 Interactions entre les composés organiques et la membrane en Polyéthersulfone	105
5.9 Approche « Composé Référence de Performance » (PRC)	107
6. Synthèse.....	111
OBJECTIFS DE THESE	113
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES.....	117
1. Molécules étudiées	119
2. Produits chimiques, solvants et matériel	124

3. Analyse par LC-MS/MS et quantification des analytes	127
3.1 Méthodes analytiques développées sur le site de Bordeaux (LPTC).....	128
3.2 Méthodes analytiques développées sur le site de Saint-Maurice (VERI).....	133
3.3 Validation des méthodes analytiques	136
3.4 Contrôles qualité lors des extractions et des analyses	138
4. Préparation, montage et mise en cartouche des POCIS.....	138
4.1 Préparation de la phase adsorbante et des membranes	138
4.2 Montage des POCIS	139
4.3 Mise en cartouche.....	139
5. Méthodes d'extraction	140
5.1 Développement et validation du protocole d'extraction d'échantillons d'eau	140
5.2 Développement et validation du protocole d'extraction de la phase réceptrice du POCIS	142
5.3 Tests de rinçage	143
5.4 Développement du protocole d'extraction des membranes du POCIS	146
6. Systèmes de calibration utilisés	148
6.1 Préparation des solutions de dopage (calibrations en laboratoire et sur pilote).....	148
6.2 Système de calibration utilisé au laboratoire	149
6.3 Système de calibration à l'échelle pilote	151
6.4 Déroulement d'un essai de calibration en laboratoire ou sur pilote	153
6.5 Calibrations <i>in-situ</i>	157
6.6 Traitement des résultats et détermination des taux d'échantillonnage	160
7. Paramètres testés lors des calibrations	161
7.1 Membrane du POCIS et validation du système d'exposition – essai n°1	162
7.2 Membrane et phase réceptrice – essai n°2.....	162
7.3 Température – essai n°3	163
7.4 Vitesse d'agitation – essai n°4.....	163
7.5 Quantité de phase réceptrice – essai n°5	164
7.6 Présence de cuivre dans la phase HLB – essai n°6.....	164
7.7 Matrice – essais n°4, 5 et 6.....	164
7.8 Dispositif d'exposition – essai n°7	164
7.9 Biofilm – essai n°8	165
7.10 Biofilm – essai n°9.....	165
7.11 Orientation des membranes PES – essai n°10.....	166
7.12 Matrice – essai n°11	167
8. Evaluation du caractère intégratif du POCIS.....	168
9. Participation aux essais interlaboratoires organisés par l'association NORMAN	170

CHAPITRE 3 : RESULTATS171

Publication n°1 : Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) calibration for steroid hormones, and flow modelling in the calibration system	175
Abstract	177
Introduction	178
Theory	179
Experimental section	179
Results and discussion	183
Conclusions	188

Acknowledgements	189
Supporting Information	190
Publication n°2 : Calibration of Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) for two perfluorinated compounds in tap water and treated wastewater	191
Abstract	193
Introduction	194
Experimental section	195
Results and discussion	200
Conclusions	205
Acknowledgements	205
Publication n°3 : Changes in POCIS design in order to sample a broad range of polar organic compounds	207
Abstract	209
Introduction	210
Experimental section	211
Results and discussion	215
Conclusions	222
Acknowledgements	224
Supplementary information	225
Publication n°4 : Field calibration and application of POCIS to monitor polar organic compounds, and biofouling impact assessment	227
Abstract	229
Introduction	230
Experimental section	231
Results and discussion	237
Conclusions	244
Acknowledgements	245
Supporting Information	246
Publication n°5 : Influence of water temperature, flow rate and matrix on POCIS sampling rates, and response to concentration peaks	247
Abstract	249
Introduction	250
Experimental section	251
Results and discussion	256
Conclusions	261
Acknowledgements	262
CHAPITRE 4 : COMPLEMENTS DE RESULTATS ET DISCUSSION	263
1. Résultats de modélisation sur le pilote.....	265
2. Préparation et extraction des POCIS	267
2.1 Quantité de phase HLB	267
2.2 Ajout de cuivre.....	268
2.3 Orientation des membranes en PES	269
2.4 Provenance des POCIS.....	270
2.5 Protocoles d'extraction des POCIS	271
3. Mise en œuvre sur site.....	273

3.1	Débit	273
3.2	Exposition des POCIS	273
3.3	Influence du dispositif de déploiement.....	274
3.4	Influence de la matrice	275
3.5	Température de stockage.....	276
4.	Interprétation des résultats	277
4.1	Types de cinétiques d'accumulation	277
4.2	Synthèse de l'ensemble des taux d'échantillonnage obtenus	277
4.3	Comparaison de différentes méthodes pour obtenir les taux d'échantillonnage	283
5.	Positionnement du prélèvement passif par POCIS par rapport aux prélèvements ponctuels ou moyennés.....	285
5.1	Limite de quantification et effet matriciel	285
5.2	Essais inter-laboratoires NORMAN	287
	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	289
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	297
	ANNEXES.....	313
	Annexe 1 : Filière de potabilisation et qualités d'eau utilisées sur le pilote (essais en eau de surface)	315
	Annexe 2 : Schéma synoptique du site A.....	317
	Annexe 3 : Schéma synoptique du site B.....	319

Liste des abréviations

2,4-D : Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique
ACN : Acétonitrile
ADEME : Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie
AMPA : Acide aminométhoxyphosphonique
ANOVA : Analyse de la variance
ANRT : Agence nationale de la recherche et de la technologie
ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
BPA : Bisphénol A
BTEX : Benzène, toluène, éthylbenzène, xylène
CAS : Chemical abstract service
CFD : Computational fluid dynamics
CGDD : Commissariat général au développement durable
CHSCT : Comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail
COD : Carbone organique dissous
COT : Carbone organique total
COV : Composés organiques volatils
CSP : Code de la santé publique
CV : Coefficient de variation
DBO5 : Demande biologique en oxygène à 5 jours
DCE : Directive cadre sur l'eau
DCM : Dichlorométhane
DCO : Demande chimique en oxygène
DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane
DEA : Déséthylatrazine
DEDIA : Déséthyl-désisopropylatrazine
DEHP : Di(2-éthylhexyl)phtalate
DGT : Diffusive gradient in thin films
DIA : Désisopropylatrazine
DVB : Divinylbenzène
E1 : Œstrone
E2 : Œstradiol
E3 : Œstriol
EC₅₀ : Concentration effective pour 50% des organismes exposés
EDA : Effect-directed analysis
EE2 : Ethinylœstradiol
EEQ : Equivalents 17β-œstradiol
EI : Etalon interne
EIL : Essai inter-laboratoires
EPA : Environmental protection agency
ESA : Acide éthanesulfonique
ESI : Ionisation par électrospray
EST : Environmental sampling technologies
HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HLB : Hydrophilic-lipophilic balanced
HPLC : Chromatographie liquide à haute performance
HSE : Hygiène sécurité environnement
JRC : Joint research centre
K_{mw} : Constante de partage membrane / eau
K_{ow} : Constante de partage octanol / eau

K_{sw} : Constante de partage échantillonneur / eau (L/g)
LC₅₀ : Concentration létale pour 50% des organismes exposés
LD : Limite de détection
LPTC : Laboratoire de physico- et toxico-chimie de l'environnement
LQ : Limite de quantification
MEB : Microscope électronique à balayage
MeOH : Méthanol
MES : Matières en suspension
MESCO : Membrane-enclosed sorptive coating
MOD : Matière organique dissoute
MRM : Multiple-reaction monitoring
MS : Spectrométrie de masse
NORMAN : Network of reference laboratories for monitoring of emerging environmental pollutants
NQE-CMA : Norme de qualité environnementale - concentration maximale admissible
NQE-MA : Norme de qualité environnementale - moyenne annuelle
NTU : Nephelometric turbidity unit
OA : Oxanilic acid
PAH : Polycyclic aromatic hydrocarbon
PC : Polycarbonate
PCB : Polychlorobiphényle
PDB : Passive diffusion bags
PDMS : Polydiméthylsiloxane
PE : Polyéthylène
PEBD : Polyéthylène basse densité
PEHD : Polyéthylène haute densité
PES : Polyéthersulfone
PFC : Composés perfluorés
PFDA : Acide perfluorodécanoïque
PFHpA : Acide perfluoroheptanoïque
PFHxA : Acide perfluorohexanoïque
PFHxS : Perfluorohexanesulfonate
PFNA : Acide perfluorononanoïque
PFOA : Acide perfluorooctanoïque
PFOS : Perfluorooctanesulfonate
POCIS : Polar organic chemical integrative sampler
POP : Polluant organique persistant
POSF : Fluorure de perfluorooctanesulfonyle
PP : Polypropylène
PRC : Performance reference compounds
PS : Polysulfone
PSU : Practical salinity unit
PTFE : Polytétrafluoroéthylène
PVC : Polychlorure de vinyle
PVDF : Fluorure de polyvinylidène
REACH : Registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals
rpm : Tours par minute
R_s : Taux d'échantillonnage (L/jour)
RSD : Relative standard deviation
RSDE : Recherche et réduction des rejets de substances dangereuses dans les eaux
SDB : Styrène-divinylbenzène
SPATT : Solid-phase adsorption toxin tracking
SPE : Extraction sur phase solide
SPMD : Semi-permeable membrane device

SPME : Micro-extraction sur phase solide
STEP : Station d'épuration
TWA : Time-weighted average
UIPP : Union de l'industrie de la protection des plantes
UPLC : Chromatographie liquide ultra-haute performance
VERI : Veolia Environnement Recherche et Innovation
WBL : Water boundary layer
WWTP : Wastewater treatment plant

Liste des figures

Figure 1 - Répartition du chiffre d'affaires par région du monde en 2011 (UIPP, Union des Industries de la Protection des Plantes)	40
Figure 2 - Quantités de pesticides (exprimées en tonnes) vendues en France (UIPP, Union des Industries de la Protection des Plantes)	40
Figure 3 - Mécanismes mis en jeu lors d'épandages de pesticides par pulvérisation (Aubertot et al. 2005)	45
Figure 4 - Concentrations minimales et maximales relevées dans les diverses classes thérapeutiques pour les différentes matrices aqueuses (nombre de classes thérapeutiques prises en compte, nombre de données prises en compte) (Capdeville, 2011)	48
Figure 5 - Variations de la concentration en diuron dans la rivière Maas (Pays-Bas) (Allan et al. 2006)	59
Figure 6 - Variations de la concentration en atrazine dans le rivière Aabach (Suisse) (Gerecke et al. 2002)	60
Figure 7 - Evolution du nombre d'articles scientifiques publiés au cours des 20 dernières années dans des revues à comité de lecture sur la thématique de l'échantillonnage passif dans les eaux	62
Figure 8 - Accumulation d'un composé dans un échantillonneur passif au cours du temps	63
Figure 9 - Echantillonneur passif de type SPMD (Seethapathy et al. 2008)	65
Figure 10 - Echantillonneur de type Chemcatcher® (Vrana et al. 2006)	67
Figure 11 - Comparaison de la première et de la seconde version du Chemcatcher® (Lobpreis et al. 2008)	67
Figure 12 - Effet de la nature de la membrane sur l'accumulation de composés organiques dans la phase réceptrice du Chemcatcher® (Kingston et al. 2000)	68
Figure 13 - Design d'un POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler)	71
Figure 14 - Structure moléculaire et spécifications de la phase Oasis HLB (www.waters.com)	71
Figure 15 - Compartiments observés autour de la membrane d'un échantillonneur passif (Seethapathy et al. 2008)	72
Figure 16 - Influence de la température sur le taux d'échantillonnage (Li et al. 2010a)	90
Figure 17 - Rapports entre les taux d'échantillonnage d'alkylphénols obtenus avec des membranes biofoulées et neuves (Harman et al. 2009)	92
Figure 18 - Effet de la salinité sur le taux d'échantillonnage de composés pharmaceutiques (Togola et Budzinski 2007)	94
Figure 19 - Taux d'échantillonnage déterminés avec trois eaux différentes (Li et al. 2011)	97
Figure 20 - Lien entre taux d'échantillonnage et surface exposée (Zhang et al. 2008)	103
Figure 21 - Effet du changement de membrane sur le taux d'échantillonnage (Zhang et al. 2008)	104
Figure 22 - Accumulation du fluoranthène dans des POCIS comportant des membranes en polyéthylène, en nylon et en PES (Abou Mrad 2011)	105
Figure 23 - Ordonnées à l'origine associées aux droites d'accumulation dans les POCIS, en fonction de leur polarité (Harman et al. 2008)	106
Figure 24 - Suivi de l'accumulation du 4-nonylphénol dans la membrane en PES et dans la phase réceptrice au cours du temps (Soulier et al. 2011)	107
Figure 25 - Comparaison entre les concentrations mesurées par échantillonnage moyenné, et celles estimées par prélèvement passif (avec et sans PRC) (Mazzella et al. 2010)	109
Figure 26 - Etapes de préparation d'un POCIS	139
Figure 27 - Rendements d'extraction obtenus sur phase Oasis HLB (200 mg) avec des volumes croissants d'eau dopée (n = 1)	141
Figure 28 - Rendements d'extraction obtenus pour les hormones après élution de la phase HLB avec les 3 mélanges de solvants (moyenne ± écart-type, n = 3)	143
Figure 29 - Effet du rinçage de la phase Oasis HLB sur le rendement d'extraction des composés pharmaceutiques	145
Figure 30 - Membrane en polycarbonate en présence d'acétonitrile	146
Figure 31 - Quantités accumulées dans les membranes en PES après une semaine d'exposition dans une eau dopée à 1 µg/L	147
Figure 32 - Schéma du système de calibration utilisé au laboratoire	149
Figure 33 - Photo du système de calibration utilisé au laboratoire	150

Figure 34 - Schéma du dispositif de calibration à l'échelle pilote	151
Figure 35 - Dispositif de calibration pilote avec les holders seuls (a), une fois les POCIS installés (b) et en vue globale (c)	152
Figure 36 - Planning classiquement suivi pour les calibrations en laboratoire et sur pilote.....	154
Figure 37 - Test de stockage d'une eau dopée dans du verre et du Nalgene durant 11 jours à -20°C.....	155
Figure 38 - Configuration pour les prélèvements du week-end sur le pilote.....	156
Figure 39 - Vue de la STEP A	157
Figure 40 - Vue générale de la STEP B (en bleu : filière eau, en rouge : filière boues, en vert : biogaz)	158
Figure 41 - Planning classiquement suivi pour les calibrations sur site	159
Figure 42 - Schéma du dispositif expérimental utilisé pour étudier l'influence de la température sur les taux d'échantillonnage	163
Figure 43 - Dispositif de déploiement commercial des POCIS (a) et canne avec grillage de protection (b)	165
Figure 44 - Vue d'un POCIS après 15 jours d'exposition dans la rivière en amont de la STEP sur le site B	166
Figure 45 - Vues au MEB de la face mate (gauche) et de la face brillante (droite) de la membrane en PES commercialisée par PALL (x 4000)	166
Figure 46 - Plan expérimental suivi lors de la simulation des pics de concentration (les flèches représentent les dopages ponctuels et les étoiles les prélèvements d'eau)	168
Figure 47 - Profils des vecteurs vitesse colorés par la vitesse (m/s) sur 3 niveaux horizontaux à 33 rpm (à gauche : vue d'ensemble, à droite : vue en coupe de chaque niveau)	265
Figure 48 - Accumulation du bézafibrate dans des POCIS comportant 50 et 200 mg de phase Oasis HLB exposés dans de l'eau filtrée sur sable dopée à 1 µg/L (n = 3)	267
Figure 49 - Taux d'échantillonnage obtenus avec 50 et 200 mg de phase Oasis HLB (n = 3)	268
Figure 50 - Influence de la présence de cuivre sur les taux d'échantillonnage (n = 2)	268
Figure 51 - Corrélation entre les quantités de composés dosées dans les POCIS fournis par les organisateurs et dans les POCIS fournis par le participant (VERI) (n = 18).....	271
Figure 52 - Etat des membranes de POCIS après trois jours d'exposition dans l'effluent de la STEP B	273
Figure 53 - Répartition de la phase Oasis HLB dans un POCIS immergé	274
Figure 54 - Influence de la matrice sur les taux d'échantillonnage déterminés sur le site B.....	275
Figure 55 - Accumulation du diclofénac dans des POCIS exposés dans de l'eau filtrée sur sable dopée à 1 µg/L	283

Liste des tableaux

Tableau 1 - Liste des substances prioritaires de la DCE (Annexe I de la Directive 2008/105/CE et en rouge les modifications et compléments apportés par la Directive 2013/39/UE).....	37
Tableau 2 - Concentrations maximales en pesticides dans les eaux de surface destinées à la potabilisation et au robinet du consommateur	42
Tableau 3 – Concentrations minimales et maximales relevées dans la littérature pour les molécules étudiées lors de ces travaux (n indique le nombre de données prises en compte) (Capdeville, 2011)	48
Tableau 4 - Exemples de travaux sur les SPMD publiés dans la littérature	66
Tableau 5 - Exemples de travaux sur les Chemcatcher® dans la littérature	69
Tableau 6 - Exemples de travaux sur les échantillonneurs en silicone dans la littérature	70
Tableau 7 - Exemples d'échantillonneurs passifs existants (d'après Vrana et al. 2005)	70
Tableau 8 - Classes de composés échantillonnés par le POCIS	73
Tableau 9 - Description des méthodes de calibration des POCIS classiquement utilisées dans la littérature (Harman et al. 2012a).....	74
Tableau 10 - Taux d'échantillonnage publiés dans la littérature pour les molécules ciblées dans le cadre de ces travaux.....	76
Tableau 11 - Influence de l'agitation sur le taux d'échantillonnage (Alvarez et al. 2004).....	85
Tableau 12 - Influence de l'agitation sur le taux d'échantillonnage (MacLeod et al. 2007)	86
Tableau 13 - Influence de l'agitation sur le taux d'échantillonnage (Li et al. 2010a).....	87
Tableau 14 - Influence de l'agitation sur la quantité de composés accumulée dans les POCIS (ng/POCIS) (Li et al. 2010b)	88
Tableau 15 - Synthèse des résultats obtenus dans la littérature sur l'influence de l'agitation sur le taux d'échantillonnage	88
Tableau 16 - Influence de la concentration en composés sur le taux d'échantillonnage (Zhang et al. 2008).....	92
Tableau 17 - Taux d'échantillonnage des POCIS à pH 3, 7, et 9 (Li et al. 2011)	93
Tableau 18 - Effet de la teneur en MOD sur les taux d'échantillonnage de composés pharmaceutiques (Li et al. 2011)	96
Tableau 19 - Caractéristiques physico-chimiques (concentrations en mg/L) des trois eaux utilisées (Li et al. 2011)	97
Tableau 20 - Caractéristiques des sites étudiés (Jacquet et al. 2012)	98
Tableau 21 - Taux d'échantillonnage de bêtabloquants déterminés <i>in-situ</i> dans différentes matrices (Jacquet et al. 2012)	98
Tableau 22 - Taux d'échantillonnage déterminés dans l'eau du robinet et dans l'eau usée (Bailly et al. 2013) ...	99
Tableau 23 - Caractéristiques des molécules étudiées	120
Tableau 24 - Produits chimiques, solvants et gaz utilisés dans le cadre de ces travaux	124
Tableau 25 - Matériel utilisé dans le cadre de ces travaux	125
Tableau 26 - Quantification des composés étudiés par étalonnage interne	127
Tableau 27 - Conditions chromatographiques pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Bordeaux	129
Tableau 28 - Paramètres du spectromètre de masse Agilent 6460 pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Bordeaux.....	129
Tableau 29 - Transitions et paramètres associés mis en œuvre pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Bordeaux.....	130
Tableau 30 - Conditions chromatographiques pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Bordeaux	131
Tableau 31 - Paramètres du spectromètre de masse Agilent 6460 pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Bordeaux.....	131
Tableau 32 - Transitions et paramètres associés mis en œuvre pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Bordeaux	132
Tableau 33 - Conditions chromatographiques pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Saint-Maurice	133

Tableau 34 - Paramètres du spectromètre de masse TSQ Quantum pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Saint-Maurice	134
Tableau 35 - Transitions et paramètres associés mis en œuvre pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Saint-Maurice	134
Tableau 36 - Conditions chromatographiques pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Saint-Maurice	135
Tableau 37 - Paramètres du spectromètre de masse TSQ Quantum pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Saint-Maurice	135
Tableau 38 - Transitions et paramètres associés mis en œuvre pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Saint-Maurice	135
Tableau 39 - Débits des deux pompes péristaltiques utilisées pour les calibrations en laboratoire	150
Tableau 40 - Débits des deux pompes péristaltiques utilisées sur le dispositif pilote	151
Tableau 41 - Actions et chronologie d'un essai de calibration	153
Tableau 42 - Durées d'exposition généralement obtenues lors d'une calibration en laboratoire ou sur pilote ...	154
Tableau 43 - Durées d'exposition généralement obtenues lors d'une calibration sur site	159
Tableau 44 - Opérations appliquées aux résultats bruts d'analyse	160
Tableau 45 - Conditions expérimentales mises en œuvre pour les différentes calibrations	161
Tableau 46 - Caractéristiques des membranes étudiées	162
Tableau 47 - Caractéristiques des phases solides étudiées	162
Tableau 48 - Représentation des concentrations subies par les différents POCIS (en vert)	169
Tableau 49 - Taux d'échantillonnage obtenus avec les deux orientations des membranes en PES	269
Tableau 50 - Taux d'échantillonnage obtenus dans les mêmes conditions expérimentales avec les POCIS commerciaux et avec les POCIS fabriqués au laboratoire	270
Tableau 51 - Taux d'échantillonnage obtenus avec les deux dispositifs de déploiement : avec la cage commerciale (Exposmeter) et sans cage, avec un grillage de protection (n = 2)	274
Tableau 52 - Répartition des analytes dans différents groupes en fonction de leur type de cinétique d'accumulation	277
Tableau 53 - Niveaux de confiance relatifs des taux d'échantillonnage	278
Tableau 54 - Ensemble des taux d'échantillonnage déterminés dans le cadre de cette étude	279
Tableau 55 - Différents types de régressions linéaires appliquées à la courbe d'accumulation du diclofénac (Figure 55)	283
Tableau 56 - Régression non-linéaire appliquée à la courbe d'accumulation du diclofénac (Figure 55)	284
Tableau 57 - Estimation de concentrations dans l'eau avec deux approches différentes	284
Tableau 58 - Evaluation de l'effet matriciel dans des échantillons d'eau de l'effluent du site B, ainsi que dans des échantillons de POCIS exposés au même endroit pendant 15 jours et dilués au 1/2 et 1/10	286
Tableau 59 - Comparaison entre les concentrations estimées par échantillonnage passif et mesurées par les laboratoires centraux lors de l'EIL NORMAN (R _s moyen)	287
Tableau 60 - Comparaison entre les concentrations estimées par échantillonnage passif et mesurées par les laboratoires centraux lors de l'EIL NORMAN (R _s <i>in-situ</i>)	288
Tableau 61 - Répartition des molécules ciblées dans trois groupes	292

Liste des équations

Equation 1	62
Equation 2	62
Equation 3	63
Equation 4	63
Equation 5	63
Equation 6	64
Equation 7	64
Equation 8	69
Equation 9	90
Equation 10	90
Equation 11	91
Equation 12	108
Equation 13	108
Equation 14	132
Equation 15	132
Equation 16	132
Equation 17	133
Equation 18	149

Introduction générale

Dès l'Antiquité, l'eau fascine les penseurs grecs et latins. Aristote écrit au IV^{ème} siècle avant JC dans ses *Météorologiques* : « L'eau, élevée par le Soleil, et retombée en pluie, s'amasse sous la terre, d'où elle s'écoule comme d'un grand réservoir [...]. Aucune eau ne s'engendre ». Même si un cycle de l'eau en tant que tel n'est pas mentionné, le philosophe admet déjà l'existence d'une dynamique entre les différents compartiments environnementaux, ainsi que la notion d'une quantité finie d'eau sur Terre.

A la Renaissance, la question du cycle de l'eau est à nouveau étudiée, mais sur la base d'observations et non plus d'idées philosophiques (Centre d'Information sur l'Eau). Les mesures et les expérimentations vont se poursuivre jusqu'à nos jours pour déboucher sur le modèle actuellement admis. Depuis son apparition sur Terre il y a 3 à 4 milliards d'années, c'est toujours la même eau qui circule et se transforme en permanence entre l'atmosphère, la surface et le sous-sol de notre planète. Son volume est resté globalement stable, autour de 1400 millions de km³ parmi lesquels seulement 39,2 millions de km³ d'eau douce (Centre d'Information sur l'Eau). La forte croissance de la population mondiale provoque une pression de plus en plus importante sur ces réserves d'eau douce.

Parallèlement à ce constat, le développement industriel ainsi que la forte croissance démographique qui ont marqué le XX^{ème} siècle sont allés de pair avec une augmentation de la commercialisation et l'utilisation de molécules de synthèse. Actuellement, on estime à plus de 110 000 le nombre de substances chimiques mises sur le marché européen (Plan Micropolluants 2010-2013), dont la plupart ne sont pas étudiées en termes de toxicité notamment. Parmi ces molécules, 30 000 sont utilisées, importées ou produites à hauteur de plus d'une tonne par an.

Cette utilisation à large échelle de molécules de synthèse, aussi bien dans l'industrie, qu'en agriculture ou encore par les particuliers, s'est traduite par une contamination généralisée de l'environnement, et notamment des milieux aquatiques (Singer et al. 2010; Loos et al. 2009; "Rapport sur la campagne nationale d'occurrence des composés alkyls perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine", ANSES, 2011). Le rapport du commissariat général au développement durable (« Contamination des cours d'eau par les pesticides en 2011 », CGDD, 2013) témoigne de l'omniprésence des pesticides dans les cours d'eau français, en métropole et dans les départements d'Outre-Mer. Parmi plus de 2300 points de prélèvements répartis sur tout le territoire, des pesticides ont été détectés sur plus de 91% des sites.

Face à cette contamination avérée de notre environnement, les Etats se dotent d'un cadre réglementaire de plus en plus strict. Depuis 2007, le règlement européen REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of Chemicals) met en place un système intégré d'enregistrement, d'évaluation et d'autorisation des produits chimiques. A partir d'un certain tonnage annuel, l'industriel ou l'importateur doit démontrer l'innocuité des substances chimiques pour l'homme et l'environnement. Dans le domaine de l'eau, la directive cadre sur l'eau ou DCE (Directive 2000/60/CE), adoptée en 2000 par l'Union Européenne, établit un cadre pour une politique communautaire de l'eau et vise l'atteinte du bon état des masses aquatiques d'ici 2015. Au niveau international, la Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants (POPs), signée en 2001 par 151 pays, vise à réduire voire supprimer l'utilisation de douze composés organiques très polluants (*dirty dozen*) comme des pesticides organochlorés, les polychlorobiphényles (PCB), les dioxines et les furanes. Elle a été complétée en 2009 par d'autres composés organiques et notamment l'acide perfluorooctanesulfonique (PFOS).

Pour certains composés présents à l'état de traces, ce sont les progrès constants en instrumentation analytique qui ont permis d'atteindre des seuils de détection très faibles et ainsi de mettre en évidence depuis une dizaine d'années la présence de nombreuses molécules dans l'environnement (Kolpin et al. 2002; Focazio et al. 2008). Ces composés qualifiés d'« émergents » regroupent entre autres les molécules pharmaceutiques, les produits de soins corporels, les détergents, les composés perfluorés, les drogues illicites, les toxines algales,... (d'après le réseau NORMAN, le réseau européen de laboratoires de référence pour l'analyse de polluants émergents).

Malgré leur présence à des concentrations très faibles (ng/L), la communauté scientifique suspecte des effets indésirables sur les organismes aquatiques, notamment la perturbation des fonctions endocrines. Certains de ces composés commencent à être réglementés comme le diclofénac et certains œstrogènes qui ont été inclus dans les listes de surveillance (*watch-lists*) établies dans la révision de la DCE d'août 2013 (Directive 2013/39/UE). Quoiqu'il en soit, le manque de données de présence, de devenir et d'impact concernant ces molécules est important.

Classiquement, les suivis environnementaux s'accompagnent de prélèvements d'eau qui peuvent être soit ponctuels soit moyennés sur une certaine durée (24h le plus souvent) afin d'y doser les molécules d'intérêt. Néanmoins, la représentativité spatiale et temporelle de telles approches se pose alors de manière légitime. La caractérisation fine de la contamination d'hydrosystèmes complexes subissant des pollutions intermittentes nécessite donc la multiplication des prélèvements, à la fois dans le temps et dans l'espace. Les outils d'échantillonnage passif ont été développés à l'origine pour capter les polluants présents dans l'air ambiant (Górecki et Namieśnik 2002), puis depuis le début des années 2000, les techniques se sont rapidement étendues au domaine de l'analyse des micropolluants présents dans les eaux (Seethapathy et al. 2008; Vrana et al. 2005). Les composés ciblés par l'outil sont échantillonnés en continu dans le milieu. Les outils d'échantillonnage passif fournissent donc une concentration moyennée dans le temps, pour un coût limité et sans apport d'énergie sur site. Par conséquent, ils présentent un intérêt notable dans le contexte précédemment décrit.

Ces travaux de thèse se sont attachés à évaluer le potentiel d'un type d'échantillonneur passif (POCIS ou Polar Organic Chemical Integrative Sampler) pour le suivi de composés organiques en sortie de station d'épuration et en rivière. Pour cela, des composés appartenant à des familles chimiques diversifiées ont été inclus dans la présente étude : pesticides, composés pharmaceutiques, hormones stéroïdiennes et composés perfluorés.

Afin de retenir des composés pertinents, la stratégie adoptée a porté à la fois sur le statut réglementaire, la présence dans l'environnement et les propriétés physico-chimiques des molécules. Plus précisément, ce sont des molécules aux statuts réglementaires différents qui ont été choisies, en incluant à la fois des composés réglementés, notamment dans le cadre de la DCE, des composés en passe d'être inclus dans les réglementations, et des composés émergents pour l'enjeu de connaissance majeur qu'ils représentent. Par ailleurs, plusieurs molécules représentatives d'un impact anthropique sur l'environnement ont été incluses dans la présente étude. Cette sélection a été confirmée par les résultats des études menées par le JRC (*Joint Research Centre*), le centre de recherche de la commission Européenne, sur des eaux de surface et des eaux souterraines européennes (Loos et al. 2009; Loos et al. 2010). Enfin, une attention particulière a été apportée à la gamme de polarité couverte par les molécules ciblées.

Ce processus de sélection a débouché sur le choix des molécules suivantes :

- PESTICIDES : atrazine, déséthyl-désisopropyl-atrazine (DEDIA), déséthyl-atrazine (DEA), désisopropyl-atrazine (DIA), hydroxyatrazine, diuron, métolachlore.

- COMPOSES PHARMACEUTIQUES : bézafibrate, carbamazépine, diclofénac, sulfaméthoxazole.
- HORMONES : œstrone, œstriol, 17α -œstradiol, 17β -œstradiol, éthinylœstradiol, lévonorgestrel, mestranol, noréthindrone, progestérone, testostérone.
- COMPOSES PERFLUORES : acide perfluorooctanoïque (PFOA) et perfluorooctane sulfonate (PFOS)

Parmi cette liste de molécules, la plupart sont sous forme neutre à un pH environnemental. Quelques unes sont sous forme anionique ou partiellement ionisées : le bézafibrate, le diclofénac, le sulfaméthoxazole, le PFOA et le PFOS. Ainsi une diversité de comportements vis-à-vis du POCIS en fonction des propriétés physico-chimiques pourra potentiellement être observée.

Ce manuscrit s'articule en quatre chapitres. Le **premier chapitre** est une synthèse bibliographique qui inclut tout d'abord la réglementation dans le domaine de l'eau, puis les composés étudiés sont présentés, tant en termes d'utilisation, de présence dans diverses matrices, de devenir dans l'environnement que d'écotoxicité, ce qui permet de dégager les enjeux majeurs pour chaque famille de composés afin d'inscrire ces travaux dans des éléments de contexte pertinents. Enfin, les différentes techniques d'échantillonnage sont détaillées et l'échantillonnage passif fait plus spécifiquement l'objet de la fin de ce chapitre. Le **second chapitre** présente notamment les protocoles de préparation, d'extraction et d'analyse des POCIS et des échantillons d'eau, ainsi que les systèmes utilisés et les paramètres testés lors des calibrations au laboratoire et sur pilote. Les deux stations d'épuration qui ont servi de sites expérimentaux sont également décrites dans ce chapitre. Le **troisième chapitre** présente les principaux résultats obtenus lors de ces travaux de thèse. Ces résultats sont organisés sous forme de cinq articles scientifiques. Enfin, le **dernier chapitre** a pour objectif de synthétiser les résultats expérimentaux, de présenter quelques données complémentaires qui n'ont pas été incluses dans les publications et de discuter l'ensemble afin de déboucher sur les conclusions de ces travaux de thèse et de dégager quelques perspectives pour de futurs travaux de recherche.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

Ce chapitre vise tout d'abord à fournir quelques éléments de réglementation dans le domaine de l'eau.

Puis les différentes familles de composés étudiées dans le cadre de ces travaux de thèse sont présentées, avec des données d'utilisation, de présence dans l'environnement et d'écotoxicologie afin de fournir des éléments de contexte pertinents.

Les différentes techniques d'échantillonnage sont ensuite présentées, avec un focus sur plusieurs dispositifs d'échantillonnage passif existants. L'outil POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler), qui constitue le cœur de ces travaux, est présenté plus en détails.

Enfin, l'influence de différents paramètres physico-chimiques (agitation, température,...) sur le comportement du POCIS est exposée. La possibilité de faire varier des éléments du POCIS (phase réceptrice ou membrane) est également présentée.

1. Contexte réglementaire

Les premières lois sur l'eau en France datent des années 1960. La loi n° 64-1245 du 16 décembre 1964 organise de manière globale la gestion de l'eau en France, aussi bien sur le plan technique, qu'économique ou financier. Le territoire français est découpé en six bassins versants. Dans chaque bassin, un comité de bassin décide des grandes orientations de la politique de l'eau, mise en œuvre ensuite par une agence de l'eau. Les six agences de l'eau françaises sont : l'Agence de l'eau Adour-Garonne, l'Agence de l'eau Artois-Picardie, l'Agence de l'eau Loire-Bretagne, l'Agence de l'eau Rhin-Meuse, l'Agence de l'eau Rhône-Méditerranée et Corse et l'Agence de l'eau Seine-Normandie.

A l'échelle européenne, les premiers textes de loi concernant la qualité de l'eau datent du milieu des années 1970. Pour une protection efficace du milieu aquatique, il est fondamental de concevoir et de mettre en œuvre une politique de protection à une échelle européenne, les pollutions de l'eau n'étant que rarement circonscrites aux frontières nationales.

La Directive européenne 76/464/CEE du 4 mai 1976 s'applique aux eaux intérieures de surface et du littoral, aux eaux de mer territoriales et aux eaux souterraines. Ce texte vise à une réduction de la pollution des eaux, en fournissant une liste de substances dangereuses dont les rejets deviennent réglementés. Cette liste contient notamment des composés organohalogénés, organophosphorés et les hydrocarbures persistants d'origine pétrolière.

La Directive 80/68/CEE du 17 décembre 1979 reprend quasiment les mêmes listes de substances dangereuses que la directive précédente, mais réglemente la protection des eaux souterraines.

Plusieurs autres textes de lois les complètent, régissant notamment la production d'eau potable (Directive 98/83/CE), le traitement des eaux urbaines résiduaires (Directive 91/271/CEE) ou la protection des eaux contre la pollution aux nitrates à partir de sources agricoles (Directive 91/676/CEE).

Actuellement, le texte majeur dans le domaine de la protection des eaux européennes est la Directive 2000/60/CE ou Directive Cadre sur l'Eau (DCE), du 23 octobre 2000. Elle a été transposée par les états membres dans leur droit national. Ce texte permet d'harmoniser les réglementations, communautaires ou nationales, en vigueur depuis 1975. L'objectif de cette directive est l'atteinte à l'horizon 2015 du « bon état », aussi bien d'un point de vue chimique qu'écologique, de toutes les masses d'eau : cours d'eau, lacs, eaux côtières, eaux souterraines. Il s'agit notamment :

- De gérer de façon durable les ressources en eau.
- De prévenir toute dégradation des écosystèmes aquatiques.
- D'assurer un approvisionnement suffisant en eau potable de bonne qualité.
- De réduire la pollution des eaux souterraines et les rejets de substances dangereuses.
- De supprimer les rejets de substances dangereuses prioritaires.

La DCE reprend le principe de la gestion par bassin versant instauré en France par la loi sur l'eau de 1964. La gestion de l'eau est ainsi assurée par des districts hydrographiques et ne repose pas sur des frontières politiques ou administratives. Chaque district hydrographique produit un plan de gestion, qui doit être en mesure de réduire la pollution due aux rejets et de protéger et restaurer l'état des eaux de surface et souterraines. Les plans de gestion ont été élaborés en 2009 ; ils couvrent la période 2009-2015.

Des listes de substances dangereuses et de substances prioritaires sont fournies en annexe de la DCE (annexe X). Des normes de qualité environnementales (NQE) pour les eaux de surface intérieures (rivières, lacs et masses d'eau artificielles qui y sont reliés) et les autres types d'eaux de surface ont été établies dans la Directive 2008/105/CE du 16 décembre 2008. Deux types de valeurs sont associées à chaque composé et à chaque matrice : une norme de qualité environnementale moyenne annuelle (NQE-MA) et une norme de qualité environnementale maximale admissible (NQE-CMA). Le tableau 1 regroupe ces molécules et les différentes NQE associées.

Cette directive a été mise à jour par la directive 2013/39/UE du 12 août 2013. Cette dernière abaisse les NQE pour plusieurs composés (anthracène, fluoranthène, nickel...) et fournit des NQE pour la matrice « biote » pour certains composés susceptibles de s'y accumuler. Douze molécules supplémentaires sont également incluses dans cette directive, parmi lesquelles le PFOS. L'ensemble des modifications et compléments apportés par la Directive 2013/39/UE est indiqué en rouge dans le tableau 1. Enfin, des listes de vigilance (*watch-lists*) seront constituées afin de recueillir des données de surveillance sur des molécules présentant des risques particuliers. Le diclofénac, le 17 β -œstradiol et le 17 α -éthinyloœstradiol figurent dans la première liste de vigilance. L'inclusion progressive de composés pharmaceutiques dans les réglementations européennes est inédite et constitue un premier pas vers la maîtrise du risque présenté par ces molécules. Les états membres ont deux ans pour transposer cette révision dans leur droit national. Les NQE révisées prendront effet en 2018.

Au niveau français, des programmes de surveillance des eaux douces de surface ont été mis en place dans l'arrêté du 25 janvier 2010. Leurs modalités d'application ont ensuite été précisées dans la circulaire du 29 janvier 2013. Toujours dans le cadre de la DCE, un plan national d'action contre la pollution des milieux aquatiques dit « Plan Micropolluants » a été engagé par le Ministère de l'environnement et couvre la période 2010-2013. Ce plan a pour objectifs de définir la stratégie globale de réduction de la présence des micropolluants dans les milieux aquatiques, et de décliner les actions correspondantes engagées ou à engager par le Ministère de l'environnement, les établissements publics dont il assure la tutelle, et l'ensemble des acteurs de l'eau, pour la période 2010-2013.

En outre, la circulaire du 7 mai 2007 fixe les objectifs français de réduction dans les rejets. Pour les substances classées comme dangereuses prioritaires, la DCE indique qu'elles devront être absentes des rejets en 2028. L'objectif national pour ces substances est fixé à 50% de réduction par rapport au niveau de 2004 à l'horizon 2015. Pour les autres substances, un objectif national de 30% de réduction par rapport au niveau de 2004 est fixé avec la même échéance.

Tableau 1 - Liste des substances prioritaires de la DCE (Annexe I de la Directive 2008/105/CE et en rouge les modifications et compléments apportés par la Directive 2013/39/UE)

N°	Nom de la substance	Numéro CAS	NQE-MA Eaux de surface intérieures (µg/L)	NQE-MA Autres eaux de surface (µg/L)	NQE-CMA Eaux de surface intérieures (µg/L)	NQE-CMA Autres eaux de surface (µg/L)	Substance dange- reuse prioritaire
1.	Alachlore	15972-60-8	0,3	0,3	0,7	0,7	
2.	Anthracène	120-12-7	0,1	0,1	0,4 (0,1)	0,4 (0,1)	X
3.	Atrazine	1912-24-9	0,6	0,6	2,0	2,0	
4.	Benzène	71-43-2	10	8	50	50	
5.	Diphényléthers bromés	Sans objet	0,0005	0,0002	0,14	0,014	X
6.	Cadmium et ses composés (suivant les classes de dureté de l'eau)	7440-43-9	≤ 0,08 (classe 1) 0,08 (classe 2) 0,09 (classe 3) 0,15 (classe 4) 0,25 (classe 5)	0,2	≤ 0,45 (classe 1) 0,45 (classe 2) 0,6 (classe 3) 0,9 (classe 4) 1,5 (classe 5)	≤ 0,45 (classe 1) 0,45 (classe 2) 0,6 (classe 3) 0,9 (classe 4) 1,5 (classe 5)	X
6 bis.	Tétrachlorure de carbone	56-23-5	12	12	Sans objet	Sans objet	
7.	Chloroalcane C10-13	85535-84-8	0,4	0,4	1,4	1,4	X
8.	Chlorfenvinphos	470-90-6	0,1	0,1	0,3	0,3	
9.	Chlorpyrifos (Ethylchlorpyrifos)	2921-88-2	0,03	0,03	0,1	0,1	
9 bis	Pesticides cyclodiènes : Aldrine Dieldrine Endrine Isodrine	309-00-2 60-57-1 72-20-8 465-73-6	Σ = 0,01	Σ = 0,005	Sans objet	Sans objet	
9 ter	DDT total	Sans objet	0,025	0,025	Sans objet	Sans objet	
	Para-para-DDT	50-29-3	0,01	0,01	Sans objet	Sans objet	
10.	1,2-Dichloroéthane	107-06-2	10	10	Sans objet	Sans objet	
11.	Dichlorométhane	75-09-2	20	20	Sans objet	Sans objet	
12.	Di(2-éthylhexyl)phtalate (DEHP)	117-81-7	1,3	1,3	Sans objet	Sans objet	X
13.	Diuron	330-54-1	0,2	0,2	1,8	1,8	
14.	Endosulfan	115-29-7	0,005	0,0005	0,01	0,004	X
15.	Fluoranthène	206-44-0	0,1 (0,0063)	0,1 (0,0063)	1 (0,12)	1 (0,12)	
16.	Hexachlorobenzène	118-74-1	0,01	0,01	0,05	0,05	X
17.	Hexachlorobutadiène	87-68-3	0,1	0,1	0,6	0,6	X
18.	Hexachlorocyclohexane	608-73-1	0,02	0,002	0,04	0,02	X
19.	Isoproturon	34123-59-6	0,3	0,3	1,0	1,0	
20.	Plomb et ses composés	7439-92-1	7,2 (1,2)	7,2 (1,3)	Sans objet (14)	Sans objet (14)	
21.	Mercure et ses composés	7439-97-6	0,05	0,05	0,07	0,07	X
22.	Naphthalène	91-20-3	2,4 (2)	1,2 (2)	Sans objet (130)	Sans objet (130)	
23.	Nickel et ses composés	7440-02-0	20 (4)	20 (8,6)	Sans objet (34)	Sans objet (34)	
24.	Nonylphénols	Sans objet	0,3	0,3	2,0	2,0	X
25.	Octylphénols	Sans objet	0,1	0,01	Sans objet	Sans objet	
26.	Pentachlorobenzène	608-93-5	0,007	0,0007	Sans objet	Sans objet	X
27.	Pentachlorophénol	87-86-5	0,4	0,4	1	1	

N°	Nom de la substance	Numéro CAS	NQE-MA Eaux de surface intérieures (µg/L)	NQE-MA Autres eaux de surface (µg/L)	NQE-CMA Eaux de surface intérieures (µg/L)	NQE-CMA Autres eaux de surface (µg/L)	Substance dange- reuse prioritaire
28.	Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)	Sans objet	Sans objet	Sans objet	Sans objet	Sans objet	X
	Benzo(a)pyrène	50-32-8	0,05 (0,00017)	0,05 (0,00017)	0,1 (0,27)	0,1 (0,027)	X
	Benzo(b)fluoranthène	205-99-2	Σ = 0,03	Σ = 0,03	0,017	0,017	X
	Benzo(k)fluoranthène	207-08-9			0,017	0,017	X
	Benzo(g,h,i)perylène	191-24-2	Σ = 0,002	Σ = 0,002	0,0082	0,00082	X
	Indeno(1,2,3-cd)pyrène	193-39-5			Sans objet	Sans objet	X
29.	Simazine	122-34-9	1	1	4	4	
29 bis	Tétrachloroéthylène	127-18-4	10	10	Sans objet	Sans objet	
29 ter	Trichloroéthylène	79-01-6	10	10	Sans objet	Sans objet	
30.	Composés du tributylétain	Sans objet	0,0002	0,0002	0,0015	0,0015	X
31.	Trichlorobenzènes	12002-48-1	0,4	0,4	Sans objet	Sans objet	
32.	Trichlorométhane	67-66-3	2,5	2,5	Sans objet	Sans objet	
33.	Trifluraline	1582-09-8	0,03	0,03	Sans objet	Sans objet	X
34.	Dicofol	115-32-2	0,0013	0,000032	Sans objet	Sans objet	X
35.	Acide perfluorooctane sulfonique et ses dérivés	1763-23-1	0,00065	0,00013	36	7,2	X
36.	Quinoxylène	124495-18-7	0,15	0,015	2,7	0,54	X
37.	Dioxines et composés de type dioxine	Sans objet	Sans objet	Sans objet	Sans objet	Sans objet	X
38.	Aclonifène	74070-46-5	0,12	0,012	0,12	0,012	
39.	Bifénox	42576-02-3	0,012	0,0012	0,04	0,004	
40.	Cybutryne	28159-98-0	0,0025	0,0025	0,016	0,016	
41.	Cyperméthrine	52315-07-8	0,00008	0,000008	0,0006	0,00006	
42.	Dichlorvos	62-73-7	0,0006	0,00006	0,0007	0,00007	
43.	Hexabromocyclodécane (HBCDD)	Sans objet	0,0016	0,0008	0,5	0,05	X
44.	Heptachlore et époxyde d'heptachlore	74-44-8/ 1024-57-3	0,0000002	0,00000001	0,0003	0,00003	X
45.	Terbutryne	886-50-0	0,065	0,0065	0,34	0,034	

2. Composés étudiés

Cette partie vise à présenter brièvement les familles de composés qui ont été étudiées dans le cadre de ces travaux de thèse, à savoir les pesticides, les composés pharmaceutiques, les hormones et les composés perfluorés.

Pour chaque famille figurent quelques données d'utilisation, de présence et d'écotoxicologie. Des ordres de grandeurs de concentrations dans différentes matrices environnementales sont également précisés. L'objectif de ce paragraphe n'est pas d'exposer de manière exhaustive chaque famille, mais de fournir des éléments de contexte pertinents par rapport aux travaux qui ont été menés.

2.1 Les pesticides

2.1.1 Origine et utilisation

Le terme générique de pesticides, ou produits phytosanitaires, regroupe notamment les insecticides, les fongicides et les herbicides. L'emploi des pesticides en agriculture remonte à l'Antiquité avec l'usage du soufre ou de l'arsenic (Observatoire des Résidus de Pesticides). Ce sont les progrès de la chimie organique après la seconde guerre mondiale qui marquent l'arrivée de composés de synthèse. Le DDT (Dichlorodiphényltrichloroéthane) a par exemple été commercialisé dès 1943 et a dominé le marché des insecticides jusqu'au début des années 1970.

L'emploi de pesticides, couplé à l'utilisation d'engrais, a permis d'augmenter de manière significative les rendements agricoles : la productivité a été multipliée par 3 depuis les années 1960 (Observatoire des Résidus de Pesticides). D'autre part, l'utilisation à large échelle d'insecticides a contribué à limiter voire à éradiquer dans certaines zones un grand nombre de maladies parasitaires très meurtrières comme le paludisme.

L'utilisation de pesticides a fortement augmenté au cours de la seconde moitié du XX^{ème} siècle avec un doublement de la consommation mondiale tous les dix ans entre 1945 et 1985 (Observatoire des Résidus de Pesticides).

La nature des pesticides appliqués dépend fortement de la zone géographique concernée : par exemple en Europe et en Amérique du Nord les herbicides représentent 70 à 80% des produits utilisés alors que dans les régions tropicales il s'agit à 50% d'insecticides (Observatoire des Résidus de Pesticides). Le chiffre d'affaires du secteur se répartit de manière équilibrée entre l'Europe, l'Asie, l'Amérique latine et l'Amérique du Nord. L'Afrique est nettement en retrait avec seulement 4% du chiffre d'affaire mondial en 2011 (Figure 1).

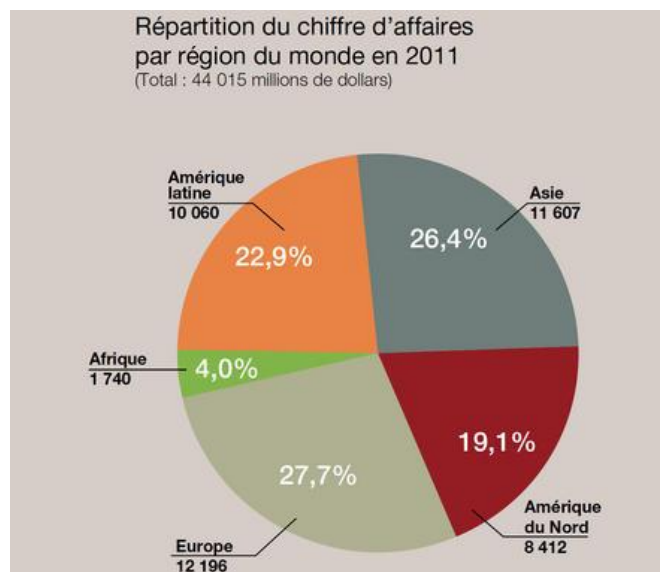


Figure 1 - Répartition du chiffre d'affaires par région du monde en 2011 (UIPP, Union des Industries de la Protection des Plantes)

Une légère tendance à la diminution est observée en France ces dernières années (Figure 2). Ce sont des quantités de l'ordre de 62 000 tonnes qui sont achetées chaque année, dont pratiquement 50 000 tonnes de produits de synthèse.

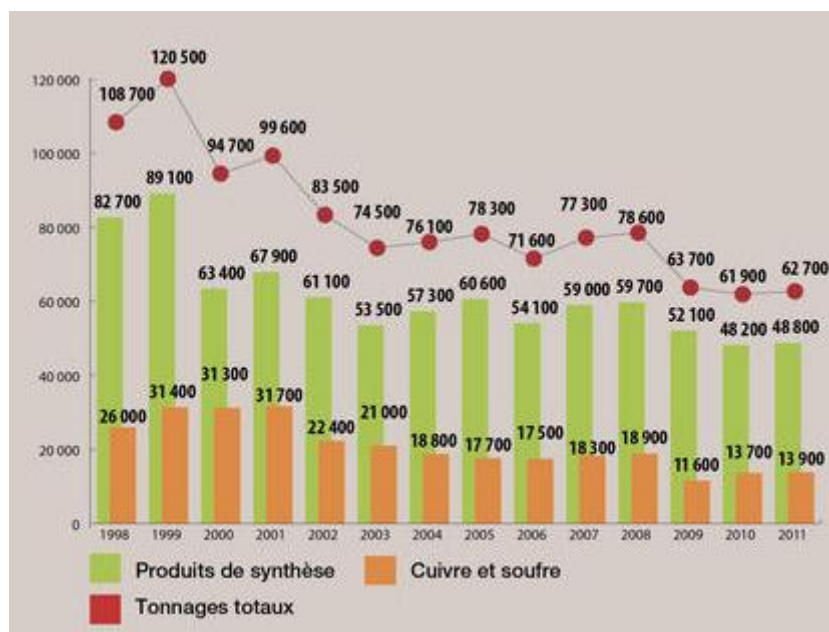


Figure 2 - Quantités de pesticides (exprimées en tonnes) vendues en France (UIPP, Union des Industries de la Protection des Plantes)

Les produits phytosanitaires peuvent être utilisés à des fins agricoles, mais également par des particuliers ou des collectivités. Les usages non-agricoles représentent environ 12 % du marché global, et entre 6 et 10 % en France (Observatoire des Résidus de Pesticides).

2.1.2 Présence

Suite à cette utilisation massive de pesticides depuis plusieurs dizaines d'années, leur présence a été mise en évidence dans tous les compartiments environnementaux : eaux, air et sols (Observatoire des Résidus de Pesticides).

Ils peuvent être retrouvés à la fois dans les eaux de surface suite à des épandages agricoles, mais également dans les eaux usées en station d'épuration (STEP) suite au ruissellement des eaux pluviales dans le cas d'utilisations urbaines ou domestiques.

2.1.2.1 Eaux usées

Dans les travaux de Singer et al. (2010), de nombreux pesticides (atrazine, diuron, mecoprop, terbutryn...) ont été détectés dans les eaux usées traitées par une STEP en Suisse, à la fois en sortie de traitement primaire et en sortie de traitement tertiaire (filtration sur sable). Ces résultats ont été confirmés par l'étude de Bueno et al. (2012) qui ont étudié cinq STEP espagnoles de différentes typologies i.e. recueillant des eaux usées urbaines, industrielles ou agricoles. L'atrazine, la simazine et le diuron ont été détectés dans l'effluent de chaque STEP au moins une fois. La concentration en atrazine et en simazine était systématique plus élevée dans l'effluent de STEP traitant des eaux usées urbaines et agricoles (quelques centaines de ng/L) que dans l'effluent des STEP traitant des eaux urbaines et/ou industrielles (quelques ng/L à quelques dizaines de ng/L). C'est le diuron qui est le plus fréquemment détecté, avec une fréquence de détection comprise entre 51 et 100 % pour l'ensemble des sites. La concentration en diuron semblait moins dépendre de la nature des eaux usées recueillies par la STEP ; elle était toujours située autour de la centaine de ng/L.

Tous les produits contenant du diuron sont interdits en France depuis décembre 2008 (Journal Officiel du 4 septembre 2007), que ce soit pour des utilisations agricoles ou non agricoles. Ce composé est néanmoins largement retrouvé dans les eaux usées. L'existence de stocks résiduels chez les particuliers et son utilisation comme agent anti-fouling dans les peintures des bâtiments (Thomas et al. 2001) pourraient être à l'origine de ce constat. En effet, le lessivage produit par les eaux de pluie est susceptible d'entraîner certains constituants de ces peintures, notamment le diuron, dans les eaux de pluie et par suite dans les réseaux d'eaux usées.

2.1.2.2 Eaux de surface

En France, le rapport du Commissariat Général au Développement Durable de juillet 2013 (« Contamination des cours d'eau par les pesticides en 2011 », CGDD, 2013) fait état d'une contamination généralisée des eaux de surface françaises, en métropole ainsi qu'en Outre-Mer (DOM). Parmi plus de 2 300 points de prélèvements répartis sur tout le territoire, des pesticides ont été détectés sur plus de 91 % des sites. Parmi les pesticides les plus fréquemment retrouvés figure l'AMPA (acide aminométhylphosphonique), un métabolite du glyphosate qui est un désherbant très largement utilisé (Roundup®). L'AMPA et le glyphosate ont été retrouvés respectivement dans 62 % et 32 % des échantillons de France métropolitaine. Dans les DOM, le pesticide majoritairement retrouvé est la chlordécone, largement utilisée jusqu'en 1990 dans les cultures bananières.

Les molécules étudiées dans le cadre de ce travail de thèse ont été détectées en France métropolitaine aux fréquences suivantes : la DEA (32 %), le diuron (18 %), l'atrazine (11 %) et le métolachlore (9 %).

L'étude du JRC (Loos et al. 2009) a permis d'obtenir des données à l'échelle européenne. Les pesticides les plus fréquemment détectés sont le diuron (70 % des échantillons), l'isoproturon (70 %), la terbutylazine-desethyl (69 %), l'atrazine (68 %), la terbutylazine (65 %) et la DEA (48 %). Les concentrations moyennes se situent autour de la dizaine de ng/L et la concentration maximale a été observée pour l'isoproturon (2 µg/L).

D'autres études témoignent de niveaux de concentrations semblables : à titre d'exemple, en Grèce (Konstantinou et al. 2006), en Espagne à proximité de zones agricoles (Herrero-Hernández et al. 2013), ou encore en aval d'une station d'épuration en Suisse (Singer et al. 2010).

2.1.2.3 Eaux souterraines

Les eaux souterraines sont également concernées par la présence de pesticides. Sur la période 2007 à 2009, sur 2321 stations de surveillance de la qualité dans les eaux souterraines en France (DOM compris), aucun pesticide n'a été détecté par le réseau Eaufrance dans près de 30 % des échantillons. Seuls 0,2 % des échantillons présentaient une concentration totale en pesticides supérieure à 5 µg/L.

Au niveau européen, l'étude du JRC (Loos et al. 2010), lors de laquelle ont été analysés 164 échantillons d'eaux souterraines provenant de 23 pays, a montré que les pesticides les plus fréquemment détectés sont l'atrazine (56 % des échantillons), la DEA (55 %), la desethylterbutylazine (49 %), la simazine (43 %), le diuron (29 %) et le métolachlor (21 %). Généralement la contamination est moins importante que pour les eaux de surface. Les concentrations moyennes observées sont relativement faibles (quelques ng/L) mais les concentrations maximales peuvent atteindre plusieurs centaines de ng/L.

Les eaux souterraines situées dans des zones fortement impactées par les activités agricoles, comme par exemple La Rioja en Espagne, dans l'étude de Herrero-Hernández et al. (2013), peuvent être particulièrement contaminées : lors de cette étude, la somme de tous les pesticides dépasse la limite de qualité pour les eaux destinées à la potabilisation de 5 µg/L (Tableau 2) pour 64 % des échantillons d'eaux souterraines collectés.

2.1.2.4 Eaux potables

En France, le code de la santé publique (CSP) édicte les dispositions réglementaires en matière d'eau potable, en application des directives européennes 98/83/CE et 75/440/CEE. Pour les pesticides, des limites de qualité sont fixées dans les eaux destinées à la potabilisation et dans les eaux distribuées (Tableau 2).

Tableau 2 - Concentrations maximales en pesticides dans les eaux de surface destinées à la potabilisation et au robinet du consommateur

Eaux de surfaces destinées à la potabilisation	Eaux distribuées
2 µg/L pour chaque pesticide	0,10 µg/L pour chaque pesticide (à l'exception de l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore et de l'heptachloroépoxyde : 0,03 µg/L)
5 µg/L pour la somme de tous les pesticides	0,50 µg/L pour la somme de tous les pesticides

L'étude de Rodriguez-Mozaz et al. (2004) sur l'ensemble d'une filière de potabilisation en Espagne montre que les différentes étapes mises en œuvre (filtration sur sable, ozonation, filtration sur charbon actif et chloration) conduisent à une eau respectant ces limites de qualité européennes, même en partant d'une eau de surface relativement contaminée (par exemple 2 µg/L de simazine au mois d'avril).

Ormad et al. (2008) confirment que l'ozonation et la chloration conduisent individuellement à un abattement compris entre 20 et 100%. En combinant l'une de ces deux techniques avec de la coagulation – floculation et avec une filtration sur charbon actif, les abattements sont compris entre 65 et 100%, et pour la plupart supérieurs à 90%.

En outre, le rapport de l'ANSES paru en septembre 2013 (ANSES, 2013) portant sur l'évaluation des risques liés aux résidus de pesticides présents dans l'eau du robinet, conclut que, sur les 106 substances prises en compte, la contribution de l'eau distribuée à la dose journalière admissible (DJA) est inférieure à 1%, quels que soient les pesticides, les sous-populations (adultes ou enfants), les régions françaises et les hypothèses (basse ou haute) considérées.

Enfin, l'étude de Gilbert-López et al. (2012) souligne le fait qu'il serait souhaitable d'étendre des telles limites de qualité aux autres boissons, en particulier celles contenant des fruits. Parmi 94 échantillons de boissons fruitées achetées en 2010 dans 15 pays dont la France, 90 % contenaient des pesticides. Certains pesticides étaient présents à des teneurs très élevées (plusieurs µg/L), ce qui aurait été considéré comme impropre à la consommation pour de l'eau distribuée.

2.1.2.5 Eaux pluviales

Les eaux pluviales sont susceptibles de contenir des produits phytosanitaires. Les niveaux de concentration observés par De Rossi et al. (2003) en Allemagne, ou par Lode et al. (1995) en Norvège, se situent typiquement autour de la dizaine de ng/L, voire la centaine de ng/L. Les travaux d'Aulagnier et al. (2008) ont mis en évidence la présence d'herbicides comme le métolachlore ou l'atrazine, dans les eaux pluviales collectées à proximité d'une zone agricole canadienne.

2.1.2.6 Air

Les produits phytosanitaires sont présents dans l'atmosphère. Les travaux publiés concernent souvent les pesticides organochlorés, comme par exemple en France dans l'étude de Scheyer et al. (2005), en Algérie (Moussaoui et al. 2012), au Pakistan (Syed et al. 2013), ou encore au Québec (Aulagnier et al. 2008). Globalement, dans ces études, les concentrations en pesticides organochlorés avoisinent la centaine de pg/m³.

Mais la présence de composés plus polaires comme l'atrazine et la simazine (Chevreuil et al. 1996), le métolachlore (Mai et al. 2013) ou encore l'acétochlore ou le chlorothalonil (Coscollà et al. 2010) a également été décrite.

2.1.2.7 Sols

La présence des pesticides dans les sols a été rapportée par différents auteurs, à des teneurs très diverses. Des concentrations en pesticides organochlorés largement inférieures au ng/g ont été obtenues pour un sol marocain (El Bakouri et al. 2008). Des concentrations de l'ordre du ng/g ont été

rapportées par Shegunova et al. (2007). A l'opposé, un sol de la région de Shanghai dépasse les 200 ng/g en DDT (Jiang et al. 2009).

2.1.2.8 Boues de STEP

Une étude à l'échelle européenne impliquant 15 pays différents a été menée par le JRC (Tavazzi et al. 2012). Trois typologies de STEP ont été distinguées : les STEP raccordées à des réseaux séparatifs i.e. ne recevant que des eaux usées domestiques, les STEP raccordées à des réseaux unitaires i.e. recevant à la fois des eaux usées domestiques et des eaux de pluie et enfin les STEP recevant des eaux usées industrielles, domestiques et des eaux de pluie. Le diuron et la carbendazime ont été retrouvés dans respectivement 56 % et 67 % des échantillons de boues respectivement, à hauteur d'environ 1,3 ng/g pour ces deux composés.

2.1.2.9 Alimentation

De nombreux aliments sont susceptibles de contenir des produits phytosanitaires : les fruits, les légumes et les céréales, par application directe des pesticides sur ces produits, mais aussi de manière indirecte dans les produits d'origine animale comme la viande ou le poisson (Observatoire des Résidus de Pesticides).

A titre d'exemple, de la chlordécone a été détectée dans de nombreux fruits et légumes produits en Guadeloupe (Seurin et al. 2012). La présence de pesticides organochlorés dans des anguilles pêchées dans une rivière italienne a également été démontrée (Ferrante et al. 2010).

Une évaluation du risque posé par l'exposition aux pesticides via l'alimentation, conduite par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) conclut que 78 % des molécules ne posent pas de risque pour le consommateur (Nougadère et al. 2011). Parmi les autres composés, 30 devraient être considérés comme « prioritaires » selon les auteurs (par exemple le carbofuran, le parathion ou le diméthoate). Sept d'entre eux sont encore autorisés en Europe comme le diazinon.

2.1.3 Devenir dans l'environnement

L'épandage de pesticides se fait majoritairement par pulvérisation (Aubertot et al. 2005). Une fois le produit appliqué, différents phénomènes peuvent avoir lieu (Figure 3) : outre la proportion de produit atteignant la cible, 10 à 70% du produit peuvent être perdus au sol et de 30 à 50% peuvent être perdus dans l'air sous forme de gouttelettes ou de gaz. De nombreux transferts indirects peuvent également intervenir, par exemple le lessivage foliaire par la pluie, la volatilisation après application du produit ou encore le transfert vers les masses d'eau, superficielles ou souterraines, par ruissellement et percolation.

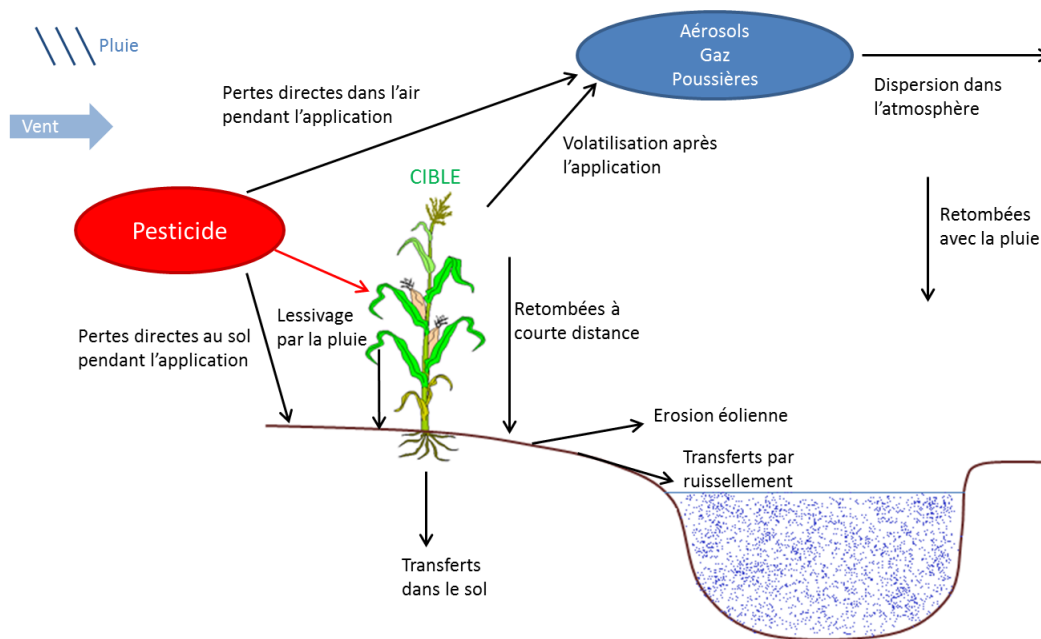


Figure 3 - Mécanismes mis en jeu lors d'épandages de pesticides par pulvérisation (Aubertot et al. 2005)

Les mécanismes régissant ces différents transferts sont complexes et dépendent fortement des propriétés physico-chimiques du composé considéré ainsi que des conditions pédo-climatiques locales.

La persistance d'un composé dans l'environnement est essentiellement gouvernée par sa structure chimique. A titre d'exemple, les temps de demi-vie des pesticides dans les sols sont très variables, allant de quelques jours à plusieurs centaines de jours (Aubertot et al. 2005). Il n'est pas possible de dégager des lois générales en ce qui concerne la résistance plus ou moins importante des différentes familles de pesticides à la dégradation.

Les produits de dégradation des pesticides représentent une part importante de la charge totale en produits phytosanitaires. Le pesticide le plus fréquemment retrouvé en France est par exemple l'AMPA, métabolite du glyphosate (« Contamination des cours d'eau par les pesticides en 2011 », CGDD, 2013). Ces observations sont confirmées par Boxall et al. (2004) qui rapportent une fréquence de détection plus élevée pour les métabolites que pour les composés parents, et ce aussi bien dans des eaux de surface que des eaux souterraines.

Par exemple pour l'atrazine, la commercialisation de ce composé a été interdite en France en 2002 et son utilisation en 2003. Pourtant ce composé est encore souvent retrouvé dans l'environnement (Lissalde et al. 2011; Morin et al. 2009). Ses métabolites comme la DEA ou la DIA sont également fréquemment détectés dans l'environnement (Loos et al. 2009).

Par conséquent, lors d'une étude générale sur les produits phytosanitaires, il est pertinent d'inclure des pesticides dont l'utilisation est interdite. En effet, même plusieurs années après avoir été interdits, ces derniers peuvent être présents à des concentrations significatives, soit à cause d'usages illicites soit à cause de leur rémanence. En outre, les différents métabolites constituent un enjeur fort, et à ce titre, méritent également de figurer dans les listes de suivi.

2.1.4 Données toxicologiques et écotoxicologiques

Par définition, les pesticides sont conçus pour exercer une activité biologique entraînant la disparition de l'insecte ou de la plante visée, il semble donc logique de s'interroger sur leur toxicité.

Les pesticides organochlorés sont mis en cause dans des cas de cancer, des problèmes de reproduction ou encore des problèmes neurologiques ou immunitaires (Mrema et al. 2012), même si les modes d'action de ces composés ne font pas l'objet d'un consensus. L'utilisation des molécules incriminées (DDT et ses métabolites, hexachlorobenzène, beta-hexachlorocyclohexane et endosulfan) étant interdite en France et dans les pays industrialisés depuis les années 1970, l'introduction de ces composés dans l'environnement est limitée. Toutefois ces molécules se caractérisent par leur importante persistance dans l'environnement, il est donc légitime d'étudier leur toxicité.

Dans l'étude de Kumar et al. (2010), une étude toxicologique a été menée sur la crevette *Paratya australiensis*, avec notamment des pesticides qui sont encore utilisés. La toxicité aigüe à 96h (mesurée par la dose tuant 50% des organismes ou LC_{50}) a été mesurée pour 6 pesticides, avec des résultats très variés : de 19 ng/L pour l'alpha-cyperméthrine jusqu'à 8,8 mg/L pour le diuron. Ces valeurs de toxicité aigüe ont été utilisées par les auteurs pour prédire des valeurs de toxicité chronique à 90 jours (2 ng/L et 10 µg/L pour les deux composés précédents, respectivement).

Par ailleurs, au vu des concentrations des produits de transformation précédemment citées, il est pertinent d'évaluer leur toxicité, au même titre que les composés parents. Dans les travaux de Boxall et al. (2004), des toxicités aigües sont rapportées à un niveau similaire pour le composé parent et le métabolite pour 39 % des composés étudiés, 20 % des métabolites sont plus de 3 fois plus toxiques que les composés parents et enfin 9 % sont plus de 10 fois plus toxiques que les composés parents.

Entre les produits phytosanitaires actuellement utilisés, les produits interdits mais toujours présents dans l'environnement et les produits de dégradation, des composés extrêmement variés sont susceptibles d'être retrouvés dans les milieux aquatiques. La problématique de la toxicité se pose alors sous l'angle des mélanges (« effet cocktail »). De fait, des effets additifs voire synergiques peuvent être observés. C'est le cas par exemple pour le mélange atrazine et diazinon dans les travaux de Banks et al. (2005) qui s'est avéré plus toxique sur des daphnies que le diazinon seul. Une LC_{50} à 48h a été obtenue à 0,16 µg/L pour le mélange diazinon et atrazine, ce dernier composé étant présent à 5 µg/L, alors qu'elle atteint 0,21 µg/L pour le diazinon seul.

2.2 Les composés pharmaceutiques

2.2.1 Origine et utilisation

Dans la directive 2001/83/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001, un médicament est défini comme « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines » ou encore « toute substance ou composition pouvant être administrée à l'homme en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier des fonctions physiologiques chez l'homme ».

La consommation globale de médicaments pour la thérapeutique humaine dans le monde est estimée à 100 000 tonnes/an, soit environ 15 g par personne et par an. Une part importante est consommée dans les pays industrialisés où il est plus raisonnable d'estimer une consommation comprise entre 50 et 150 g par personne et par an (Aquaref, 2009).

Un rapport de l'ANSM (Agence Nationale de sécurité du Médicament et des produits de santé), datant d'octobre 2012, estime à 3 000 le nombre de substances actives sur le marché en France en 2011, déclinées en 10 500 spécialités. La consommation pharmaceutique de la population française est en moyenne de 48 boîtes de médicaments par an et par personne sur l'année 2011.

Le même rapport présente un classement des ventes (soit en chiffre d'affaire soit en nombre d'unités vendues) des différentes classes de médicaments en officine. Les médicaments du système cardiovasculaire représentent la classe générant le chiffre d'affaire le plus important (17,3 % du total), alors qu'en termes d'unités vendues ce sont les médicaments du système nerveux qui sont classés en tête avec 32,6 % de l'ensemble des unités vendues.

Après administration, les médicaments sont excrétés via les urines et les fèces et se retrouvent donc dans les eaux usées. Ces dernières peuvent être soit directement rejetées vers le milieu naturel soit envoyées vers des stations d'épuration (STEP).

Les voies majoritaires d'introduction de composés pharmaceutiques dans l'environnement sont les suivantes (Capdeville, 2011) :

- les rejets directs d'eaux usées,
- les rejets d'eaux traitées des STEP,
- les épandages de boues résiduelles provenant du traitement des eaux dans les STEP,
- les épandages des déchets d'élevage,
- les déjections animales émises directement dans le milieu,
- les déversements dans les fermes aquacoles,
- les lixiviats de décharges,
- les usines de fabrication et de conditionnement.

2.2.2 Présence

Grâce à l'amélioration continue des techniques analytiques au cours des trente dernières années, des molécules présentes à l'état de traces dans l'environnement ont pu être mises en évidence. Ce groupe de composés inclut les médicaments, qui ont commencé à être étudiés au cours des années 1990. Depuis, de nombreux articles ont été publiés à ce sujet et ont révélé la présence des composés pharmaceutiques dans tous les compartiments de l'environnement.

2.2.2.1 Matrices aqueuses

Parmi l'ensemble des compartiments environnementaux, les matrices aqueuses ont été particulièrement étudiées (Figure 4).

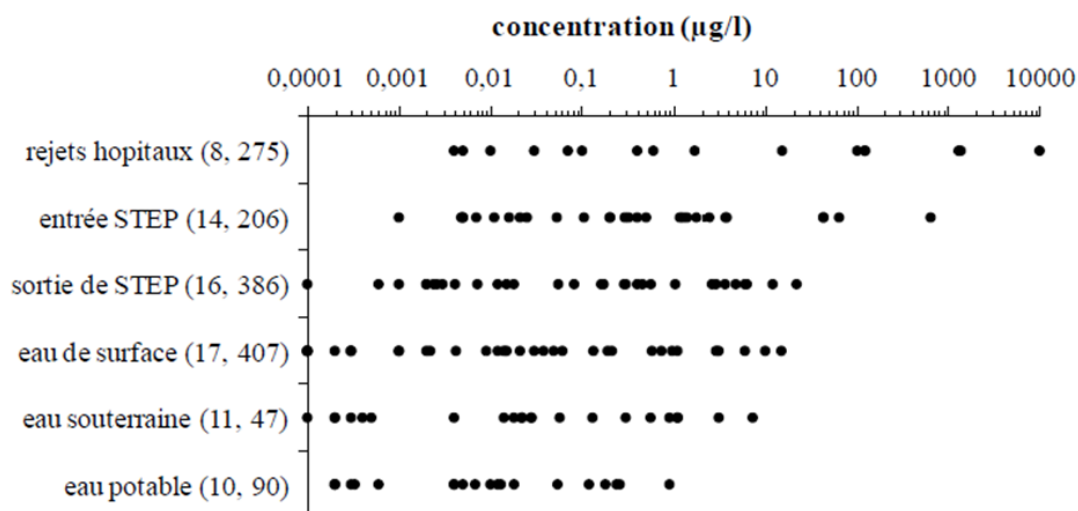


Figure 4 - Concentrations minimales et maximales relevées dans les diverses classes thérapeutiques pour les différentes matrices aqueuses (nombre de classes thérapeutiques prises en compte, nombre de données prises en compte) (Capdeville, 2011)

Sur l'ensemble des matrices aqueuses considérées, les concentrations en composés pharmaceutiques sont globalement comprises entre quelques ng/L et quelques µg/L. Les concentrations maximales sont atteintes pour les rejets d'hôpitaux et les entrées de STEP, i.e. les eaux usées brutes. Dans les eaux potables, les composés pharmaceutiques peuvent être détectés à hauteur de quelques dizaines voire centaines de ng/L.

Plus précisément, concernant les composés pharmaceutiques étudiés dans ces travaux de thèse, à savoir le bézafibrate, la carbamazépine, le diclofénac et le sulfaméthoxazole, les gammes de concentrations retrouvées dans la littérature dans diverses matrices aqueuses sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 – Concentrations minimales et maximales relevées dans la littérature pour les molécules étudiées lors de ces travaux (n indique le nombre de données prises en compte) (Capdeville, 2011)

Composé	Rejets hospitaliers	Entrées de STEP	Eaux usées traitées	Eaux de surface	Eaux souterraines	Eaux potables
Bézafibrate	-	20-900 ng/L n = 5	10-4000 ng/L n = 18	0,2-3000 ng/L n = 21	1-8 ng/L n = 2	0,3-15 ng/L n = 6
Carbamazépine	30-100 ng/L n = 3	35-4000 ng/L n = 10	30-6000 ng/L n = 37	0,1-1000 ng/L n = 38	0,1-900 ng/L n = 7	0,8-250 ng/L n = 14
Diclofénac	60-15000 ng/L n = 11	50-7000 ng/L n = 13	10-5000 ng/L n = 34	0,2-1000 ng/L n = 30	0,2-600 ng/L n = 6	0,2-3 ng/L n = 5
Sulfaméthoxazole	100-10000 ng/L n = 20	20-3000 ng/L n = 14	10-2000 ng/L n = 31	0,1-2000 ng/L n = 44	0,2-1000 ng/L n = 9	0,3-4 ng/L n = 5

De manière logique, les concentrations maximales les plus élevées sont atteintes pour les eaux usées brutes (rejets hospitaliers et eaux en entrée de STEP). Les gammes de concentrations observées pour les eaux de surface et les eaux souterraines sont très étendues. De fait, ce type de matrices est diversement impacté par les sources de produits pharmaceutiques, notamment les eaux usées. En fonction du choix du site d'étude, les concentrations obtenues peuvent donc être très variables. Enfin, les concentrations observées dans les eaux potables sont nettement plus faibles, généralement

inférieures à la dizaine de ng/L, sauf pour la carbamazépine où elle peut atteindre plusieurs centaines de ng/L.

2.2.2.2 Boues de STEP

La répartition des composés pharmaceutiques entre les eaux traitées et les boues est très dépendante de leurs propriétés physico-chimiques. Leur comportement ne peut même pas être généralisé à l'ensemble des molécules d'une même classe thérapeutique comme les antibiotiques par exemple (Heidler et Halden, 2008). Globalement, les concentrations dans les boues de STEP varient de quelques ng/g à plusieurs centaines de ng/g (Capdeville, 2011).

L'étude du JRC (Tavazzi et al. 2012) confirme ces niveaux de concentrations : entre quelques ng/g (matière sèche) pour le naproxène ou le bézafibrate par exemple, et quelques dizaines de ng/g (matière sèche) pour le diclofénac ou l'acide acétylsalicylique par exemple, ont été quantifiés dans des échantillons de boues issues de 15 pays européens.

2.2.2.3 Sédiments

Relativement peu d'études se sont attachées à documenter la présence de composés pharmaceutiques dans les sédiments par rapport aux matrices aqueuses. La présence d'antibiotiques a été rapportée par Yang et al. (2010) à hauteur de quelques dizaines de ng/g, jusqu'à quelques µg/g pour l'ofloxacine et la norfloxacine. La carbamazépine et l'acétaminophène ont été détectées par Vazquez-Roig et al. (2012) dans quasiment tous les échantillons de sédiments prélevés dans une rivière espagnole, à des concentrations allant de quelques ng/g à quelques dizaines de ng/g.

2.2.3 Devenir dans l'environnement

Après introduction dans l'environnement, le devenir des composés pharmaceutiques est complexe car de nombreuses caractéristiques physico-chimiques interviennent : le pKa, le coefficient de partage entre l'octanol et l'eau (K_{ow}), le coefficient de partage entre la fraction de carbone organique et l'eau, dans les sols, les boues ou les sédiments (K_{oc}), la solubilité et la constante de Henry (Capdeville, 2011).

Au sein d'une STEP, le devenir d'un composé pharmaceutique varie fortement en fonction de la molécule étudiée, du procédé de traitement de la STEP en question, et des conditions climatiques (Capdeville, 2011). Toutes les molécules ne sont pas abattues de la même façon : l'abattement peut varier de quasiment zéro à 100%. Parmi les composés qui sont très bien abattus figurent par exemple le paracétamol ou l'acide acétylsalicylique (Fent et al. 2006). A l'opposé, certains composés ne sont quasiment pas traités et sont retrouvés dans l'effluent à des concentrations proches de celles d'entrée, comme la carbamazépine par exemple (Capdeville 2011; Fent et al. 2006).

Toutefois, lors de l'estimation de l'abattement par une station d'épuration, il convient de considérer l'existence de multiples métabolites ainsi que la formation potentielle de sous-produits de dégradation qui ne sont le plus souvent pas inclus dans les études sur ces composés (rapport de l'Académie nationale de Pharmacie, 2008). Par exemple, il a été montré par Ferrando-Climent et al. (2012) que plusieurs métabolites de l'ibuprofène (1-hydroxyibuprofène, 2-hydroxyibuprofène ou encore le diacide carboxylique de l'ibuprofène) sont présents en entrée et en sortie de STEP à des concentrations significatives, souvent plus élevées que celles de l'ibuprofène. Les nombreux

métabolites de la carbamazépine (2-hydroxycarbamazépine, 3-hydroxycarbamazépine, 10-hydroxycarbamazépine, 10,11-dihydro-10,11-époxy carbamazépine, 11-dihydro-10,11-époxy carbamazépine, entre autres) sont également présents à des concentrations importantes, comparables ou plus élevées que celles de la carbamazépine (Farré et al. 2008). Ces observations sont confirmées par les résultats sur des eaux de rivière de López-Serna et al. (2012).

2.2.4 Données toxicologiques et écotoxicologiques

Les molécules pharmaceutiques sont produites pour être biologiquement actives et agir sur les récepteurs humains et animaux ou être toxiques envers les organismes infectieux (Jelić et al. 2009). De plus, ces composés sont retrouvés à des concentrations significatives dans les masses d'eau. Dès lors, il est légitime de se poser la question d'éventuels effets néfastes sur les écosystèmes.

De nombreux effets toxiques induits par les composés pharmaceutiques ont été mis en évidence dans la littérature. A titre d'exemple, la croissance des cellules embryonnaires humaines a été inhibée par un mélange de 13 molécules pharmaceutiques présentes à des niveaux de concentrations reflétant les concentrations environnementales (ng/L) (Pomati et al. 2006). Par ailleurs, Hartmann et al. (1998) ont montré grâce à des tests *in vitro* *UmuC* que la génotoxicité d'eaux usées d'hôpitaux pouvait être attribuée à la présence de ciprofloxacine.

Néanmoins, ces résultats doivent être nuancés par le fait que la majorité des concentrations correspondant à une toxicité aiguë chez les invertébrés (EC_{50}) sont comprises entre le mg/L et la centaine de mg/L (Capdeville 2011). Ces concentrations sont bien supérieures à celles classiquement retrouvées dans l'environnement.

En outre, la toxicité des différents métabolites n'a été que très peu étudiée à ce jour ce qui, au regard des concentrations précédemment citées ainsi que de la multiplicité des molécules, constitue une importante lacune (rapport de l'Académie nationale de Pharmacie, 2008). Certains bio-essais menés sur les métabolites du propranolol (Nałecz-Jawecki et al. 2008) ou sur l'acide oseltamivirique, un métabolite de l'oseltamivir (Tamiflu®) (Escher et al. 2010) ont mis en évidence une toxicité comparable à celle de la molécule parente. La poursuite des travaux de recherche dans ce sens semble donc pleinement justifiée et nécessaire.

Il serait pertinent de documenter davantage l'exposition à long terme, avec des concentrations plus faibles car il manque des données de toxicité chronique (Fent et al. 2006). De plus, l'état des connaissances actuelles sur les potentiels effets additifs voire synergiques (« effet cocktail ») de composés présents individuellement en faible concentration, mais en très grand nombre, et en particulier pour des composés appartenant à des classes différentes, est largement insuffisant (AQUAREF, 2009).

2.3 Les hormones stéroïdiennes

2.3.1 Origine et utilisation

La définition d'une hormone stéroïdienne est la suivante : « hormones dérivées des stérols, sécrétées par les glandes endocrines (glandes corticosurrénales, glandes génitales, placenta) » (Larousse). Deux types d'hormones stéroïdiennes peuvent être distingués : les hormones produites naturellement (œstrone, 17-beta-œstradiol, testostérone...) et les hormones de synthèse utilisées à des

fins contraceptives ou dans le cadre de traitements hormonaux de substitution (éthinyloestradiol, mestranol...). Dans les deux cas, les hormones stéroïdiennes sont excrétées et rejoignent les réseaux d'assainissement.

A titre d'exemple, les quantités consommées au cours de l'année 2004 en progestagènes synthétiques sont environ de 12,8 tonnes dont près de 10 tonnes de progestérone (Besse et Garric 2009).

Les STEP représentent le principal vecteur d'hormones de synthèse vers le milieu aquatique (Gabet-Giraud, 2009), toutefois il est nécessaire de prendre également en compte les apports liés aux utilisations vétérinaires dans les élevages (Refsdal, 2000).

2.3.2 Présence et devenir

D'une manière globale, ce sont essentiellement les œstrogènes qui ont été ciblés lors des études publiées dans la littérature, à cause de leur fort effet perturbateur endocrinien. Plus récemment, les études ont commencé à inclure les progestagènes et les androgènes.

2.3.2.1 Influent et effluent de STEP

L'article de Miège et al. (2009a) compile les résultats de nombreux travaux lors desquels ont été analysées des hormones stéroïdiennes dans les eaux usées (à la fois en entrée et en sortie de STEP). Plusieurs dizaines de données ont été incluses concernant les œstrogènes (œstrone, 17-alpha et 17-beta-œstradiol, éthinyloestradiol et œstriol). Des concentrations moyennes en entrée de STEP comprises entre 4 ng/L pour l'éthinyloestradiol et 115 ng/L pour l'œstriol ont été obtenues. En sortie de STEP, des concentrations moyennes comprises entre 0,8 ng/L pour le 17-alpha-œstradiol et 21 ng/L pour l'œstrone ont été obtenues. Des abattements corrects, allant de 68% pour l'éthinyloestradiol à 92% pour l'œstriol ont été constatés.

Chang et al. (2011) ont inclus aux œstrogènes, les androgènes et les progestagènes dans la liste des composés qu'ils ont suivis en entrée et en sortie de STEP chinoises. Quel que soit le site, les androgènes (androstérone, épiandrostérone et androstènedione) représentaient 97 % de la concentration totale en hormones en entrée de la STEP. Les œstrogènes et les progestagènes ont été détectés à hauteur de quelques dizaines de ng/L en entrée et quelques ng/L en sortie. Un abattement très satisfaisant, supérieur à 90% a été constaté pour les androgènes et les progestagènes. Pour les œstrogènes en revanche, un abattement plus faible compris entre 67 et 80% a été mis en évidence, ce qui est en accord avec les résultats de la précédente synthèse.

2.3.2.2 Eaux de surface

L'œstrone et le 17-beta-œstradiol ont été quantifiés à hauteur de quelques ng/L dans tous les échantillons d'eaux de surface prélevés dans une rivière de la région parisienne et analysés par Miège et al. (2009b). Le 17-alpha-œstradiol et l'éthinyloestradiol n'ont quant à eux jamais été quantifiés dans les eaux de surface étudiées dans le cadre de ces travaux. L'œstriol n'a été quantifié qu'une seule fois, à une concentration de 4,9 ng/L dans une rivière impactée par un rejet de STEP.

Par ailleurs, les travaux de Vulliet et Cren-Olivé (2011) ont montré que des hormones stéroïdiennes comme la testostérone, l'androstènedione et la progestérone étaient présentes dans quasiment tous les échantillons prélevés en Rhône-Alpes (fréquence de détection > 80%), avec des concentrations comprises entre 0,2 et 3,6 ng/L.

Dans l'étude de Cargouët et al. (2004) portant sur quatre œstrogènes (œstrone, 17-beta-œstradiol, œstriol et éthinylœstradiol), les hormones en question ont été constamment détectées dans les échantillons d'eau de surface de la région parisienne. Les concentrations associées étaient comprises entre 1 et 3,2 ng/L pour tous les sites étudiés.

2.3.2.3 Eaux souterraines

Vulliet et Cren-Olivé (2011) ont mis en évidence la présence d'hormones stéroïdiennes comme la testostérone, l'androstènedione et la progestérone dans quasiment tous les échantillons d'eau souterraines prélevés en Rhône-Alpes (fréquence de détection > 90%), avec des concentrations comprises entre 0,4 et 4 ng/L.

La review de Lapworth et al. (2012) fait état de plusieurs études rapportant la présence d'œstrone à des concentrations comprises entre 0,1 et 45 ng/L et de 17-beta-œstradiol à des concentrations comprises entre 0,79 et 120 ng/L, dans les eaux souterraines. Néanmoins, ces résultats sont à nuancer par le fait que cette review inclut des études parfois anciennes (avant 2000). Par conséquent, la fiabilité de certains résultats, notamment les concentrations les plus élevées, apparaît discutable au regard de l'évolution des techniques analytiques. De plus, dans le cadre de l'étude au niveau européen du JRC (Loos et al. 2010), l'œstrone a été détectée dans seulement 0,6 % des échantillons, à une concentration maximale de 4 ng/L.

2.3.2.4 Eaux potables

Plusieurs études ont été menées sur l'éventuelle présence d'hormones dans l'eau distribuée (Azzouz et Ballesteros 2013; Huerta-Fontela et al. 2011; Kleywegt et al. 2011). Lors de ces études, les hormones stéroïdiennes n'ont pas été détectées dans l'eau potable, mettant en évidence l'efficacité des filières de potabilisation.

Par ailleurs, dans le cadre d'une étude sur des eaux minérales (Dévier et al. 2013), aucune hormone stéroïdienne n'a été détectée.

2.3.2.5 Boues de STEP

L'article de review de Díaz-Cruz et al. (2009) rassemble l'ensemble des méthodes d'extraction et d'analyse, ainsi que les niveaux de concentration en œstrogènes dans les échantillons de boues de STEP. Cette matrice étant particulièrement complexe, des étapes de purification sont nécessaires et la quantification de composés organiques présents à l'état de traces représente un défi. Seuls deux articles ont pu être inclus dans cette revue (Nieto et al. 2008; Muller et al. 2008), le premier présente des résultats obtenus sur des échantillons espagnols et le second sur des échantillons français. Par conséquent la généralisation des conclusions qui ont été tirées reste relativement limitée. Il semble que les œstrogènes aient généralement été quantifiés à des concentrations de l'ordre de quelques ng/g de poids sec. L'œstriol a été retrouvé par Nieto et al. (2008) à des concentrations assez importantes dans

un échantillon (406 ng/g de matière sèche), alors qu'il n'a pas été détecté dans les échantillons analysés par Muller et al. (2008).

Ces niveaux de concentrations (quelques ng/g de poids sec) ont été confirmés par les travaux ultérieurs réalisés par Muller et al. (2010) sur des échantillons de boues collectés dans trois STEP différentes.

Par ailleurs, dans le cadre d'une collaboration entre Veolia Environnement et Suez Environnement sous l'égide de l'ADEME, l'Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (Bruchet et al. 2006), des analyses de boues de STEP provenant de 14 stations représentatives du parc français (taille, type de traitement...) ont été effectuées. Des niveaux de concentrations en œstrogènes de l'ordre de quelques ng/g à quelques dizaines de ng/g (matière sèche) ont été rapportés, consolidant ainsi les données de la littérature.

2.3.3 Données toxicologiques et écotoxicologiques

Kidd et al. (2007) ont montré que la population d'un poisson (*Pimephales promelas*) a quasiment disparu suite à une exposition à seulement 5-6 ng/L d'éthinylœstradiol dans un lac utilisé comme site expérimental pour cette étude.

Suite à une exposition de la même espèce de poisson à différents niveaux de concentration en éthinylœstradiol, Pawlowski et al. (2004) ont montré que la production de vitellogénine était induite chez les mâles dès 1 ng/L. Ce biomarqueur témoigne de l'exposition des organismes à des composés œstrogéniques ou œstrogéno-mimétiques. Dès 0,1 ng/L, une augmentation significative du nombre d'œufs pondus a été mise en évidence, confirmant les effets toxiques de ce composé à partir de concentrations extrêmement faibles.

Par ailleurs, Gyllenhammar et al. (2009) ont montré des atteintes du système reproducteur de la grenouille (*Xenopus tropicalis*) après une exposition pendant 2 mois à 1,8 ng/L d'éthinylœstradiol.

Les effets perturbateurs endocriniens de ces composés, notamment de l'éthinylœstradiol, apparaissent d'autant plus préoccupants qu'ils sont mis en évidence à des niveaux de concentrations proches du niveau environnemental.

2.4 Les composés perfluorés (PFC)

2.4.1 Origine et utilisation

Les composés perfluorés sont très utilisés dans l'industrie depuis une cinquantaine d'années. Cette utilisation exploite les caractéristiques physico-chimiques des PFC (importante stabilité, caractère amphiphile...). Ils sont employés dans les traitements de surface, d'emballages, de tissus, comme revêtement antiadhésif, dans les peintures, les lubrifiants, les mousses anti-incendies... (Lindstrom et al. 2011).

Les voies d'introduction des composés perfluorés dans l'environnement sont multiples : rejets directs des industries utilisant ces composés, application de mousses anti-incendies, rejets de stations d'épuration, eaux de ruissellement (Labadie et Chevreuil, 2011).

De par leur utilisation majoritairement industrielle, les données sur les quantités de PFC produites sont relativement rares. Un des producteurs majoritaires de PFC jusque dans les années 2000 était l'industriel 3M, avec une production cumulée de 96 000 tonnes de POSF (fluorure de

perfluorooctanesulfonyle, un précurseur de nombreux composés perfluorés) entre 1970 et 2002 (Lindstrom et al. 2011).

2.4.2 Présence et devenir

2.4.2.1 Influent et effluent de STEP

Dans l'article de Heidler et Halden (2008), des concentrations de l'ordre de la dizaine de ng/L tirées d'une douzaine d'articles sont rapportées pour tous les PFC, aussi bien en entrée qu'en sortie de STEP. L'abattement obtenu par le traitement en STEP est très faible voire inexistant.

L'étude de Sinclair et Kannan (2006) fournit des résultats à peu près équivalents pour le PFOS en sortie de STEP, toutefois les concentrations obtenues pour le PFOA sont nettement supérieures avec des concentrations allant jusqu'au µg/L.

La review de Zareitalabad et al. (2013) fournit des valeurs dans les effluents de STEP proches des résultats de Heidler et Halden (2008), à savoir de l'ordre de la dizaine de ng/L.

La publication de Ratola et al. (2012) confirme ces résultats. En effet les données rassemblées dans cet article montrent que les concentrations en PFC sont généralement autour de quelques dizaines de ng/L en entrée et en sortie de STEP, avec un abattement faible.

2.4.2.2 Eaux de surface

En France, l'ANSES a été mandatée en 2009 par le Ministère chargé de la Santé pour réaliser une campagne nationale sur l'occurrence des composés perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine, notamment les eaux de surface (ANSES, 2011). Sur 135 échantillons d'eau de surface, le PFOS (perfluorooctanesulfonate) est le plus fréquemment quantifié (36 % des échantillons), suivi par le PFOA (acide perfluorooctanoïque ; 11 %). Les concentrations associées se situent autour de quelques ng/L à quelques dizaines de ng/L, avec une concentration maximale rapportée pour le PFHxA (acide perfluorohexanoïque) de 139 ng/L.

La review de Zareitalabad et al. (2013) regroupe plus de 400 résultats de concentrations en PFOA et PFOS rapportées dans la littérature au niveau mondial. Ces deux composés sont en moyenne présents à hauteur de quelques ng/L dans les eaux de surface, ce qui est en accord avec les valeurs obtenues par l'ANSES. Les concentrations les plus élevées ont été obtenues aux Etats-Unis avec plusieurs dizaines de ng/L en moyenne. A l'opposé, le Canada et le Brésil présentaient les concentrations les plus faibles en PFOA et PFOS, respectivement, parmi les 10 pays considérés (moins de 1 ng/L).

2.4.2.3 Eaux souterraines

Les travaux de Gellrich et al. (2012) ont montré que les composés perfluorés peuvent atteindre les nappes phréatiques suite à un épandage de boues de STEP par exemple. Ce sont en particulier les composés perfluorés à chaînes courtes, avec un nombre d'atomes de carbone inférieur à 7, qui sont retrouvés dans les eaux souterraines.

Lors d'une vaste étude à l'échelle européenne portant sur la contamination des eaux souterraines (Loos et al. 2010), les fréquences de détection des composés perfluorés étaient élevées (66% pour le PFOA et 48% pour le PFOS). D'autres composés perfluorés comme le PFHxS, PFHpA (acide perfluoroheptanoïque) ou le PFDA (acide perfluorodécanoïque), ont été détectés à des fréquences inférieures à 40%. Les concentrations en PFOA et PFOS étaient respectivement de 3 et 4 ng/L, en moyenne, et au maximum de 39 et 135 ng/L.

2.4.2.4 Eaux potables

Le travail de l'ANSES (ANSES, 2011) a également porté sur des eaux ayant subi des traitements de potabilisation. Sur 69 échantillons d'eau traitée, 35 contiennent au moins un composé perfluoré à une concentration supérieure à 4 ng/L (limite de quantification de la méthode analytique). Que l'eau potable soit produite à partir d'eau de surface ou d'eau souterraine, le composé perfluoré prévalent est le PFOS (28 et 43 % des échantillons, respectivement). Les niveaux de concentrations rapportés varient entre 4 et 156 ng/L pour la somme des PFCs. Il est à noter que la contribution des acides et des sulfonates à 6 atomes de carbone est significative car la fréquence à laquelle ont été quantifiés ces composés est environ 30 %. Les auteurs justifient cette observation par une possible dégradation de précurseurs de PFCs au cours des processus de potabilisation.

Les niveaux de concentrations obtenus par Ericson et al. (2008) sont compris entre 0,39 et 0,87 ng/L et entre 0,32 et 6,28 ng/L pour le PFOS et le PFOA respectivement, dans des eaux du robinet et des eaux embouteillées espagnoles.

Des concentrations en PFOA relativement élevées (environ 600 ng/L) ont été relevées par Skutlarek et al. (2006) dans des eaux du robinet allemandes dans la région de la Ruhr.

L'article de Mak et al. (2009) présente les résultats d'analyses ayant été effectuées sur des eaux distribuées dans différents pays : Chine, Inde, Japon, Etats-Unis et Canada. Les concentrations en composés perfluorés sont toujours inférieures à 50 ng/L sauf en Chine et en Inde où les concentrations atteignent la centaine de ng/L.

Seuls les Etats-Unis via l'US-EPA (*Environmental Protection Agency*) et l'Allemagne ont proposé des valeurs de concentrations réglementaires pour l'eau potable. Pour l'US-EPA, elles sont fixées à 400 ng/L et 200 ng/L pour le PFOA et le PFOS, respectivement. Pour l'Allemagne, la somme des concentrations en PFOS et en PFOA ne doit pas dépasser 300 ng/L.

2.4.2.5 Sols

Plusieurs résultats d'analyse de PFC dans les sols sont rassemblés dans l'article de Zareitalabad et al. (2013). Les concentrations en PFOS et en PFOA dans les sols sont généralement autour du ng/g de matière sèche, hormis pour quelques sites à proximité de zones industrielles où les concentrations atteignent quelques dizaines de ng/g matière sèche.

2.4.2.6 Alimentation

Les composés perfluorés sont très stables et bioaccumulables (Labadie et al. 2010). Toutefois, de par leur structure particulière, leur comportement vis-à-vis de la bioaccumulation est très probablement différents des polluants hydrophobes comme les PCB (Polychlorobiphényles) ou les

PBDE (Polybromodiphényléthers) qui s'accumulent préférentiellement dans la graisse. A titre d'exemple, les quantités de PFC mesurées dans les muscles de poissons (*L. Cephalus*) prélevés dans la rivière Orge en banlieue parisienne atteignent 19 ng/g de poids frais pour les acides perfluorés (somme de 9 composés) et 46 ng/g de poids frais pour les sulfonates (somme de 5 composés) (Labadie et al. 2010), prouvant ainsi que l'alimentation peut être une source d'exposition aux PFC importante.

Fromme et al. (2009) ont considéré différentes voies d'exposition aux PFCs : alimentation, air intérieur et extérieur, inhalation de poussière et eau potable afin de les hiérarchiser. Les auteurs parviennent à la conclusion que l'alimentation est la voie d'exposition majeure pour l'homme, représentant plus de 90% des apports en PFOS et en PFOA.

2.4.3 Données toxicologiques et écotoxicologiques

Les effets toxiques des composés perfluorés incluent l'hépatotoxicité, l'immunotoxicité et des affections du développement (Lau et al. 2007).

Xu et al. (2013) ont exposé des vers de terre à un sol contaminé en PFOS pendant 42 jours. Les auteurs ont constaté l'induction d'un stress oxydatif et des dommages à l'ADN. Néanmoins, ces résultats doivent être nuancés par le fait que les concentrations testées (de 10 à 120 µg/g) sont très largement supérieures aux concentrations retrouvées dans l'environnement.

Les travaux de Rodea-Palomares et al. (2012) soulignent l'importance de prendre en considération les interactions entre composés et les effets « cocktails ». Ces auteurs ont étudié les effets, soit de synergie soit d'antagonisme, entre le PFOS, le PFOA, des métaux (mercure, cadmium) et des composés organiques (2,4-D, propylparabène, mitomycine C et furazolidone). Les résultats obtenus suggèrent des effets d'antagonisme entre les composés perfluorés et les métaux étudiés, la toxicité résultante étant plus faible que celle des métaux seuls. Les auteurs justifient ce résultat par la stabilisation des cations métalliques par les perfluorés qui sont sous forme anionique à un pH neutre. A l'inverse, des interactions synergiques entre le PFOS et le 2,4-D, le furazolidone et la mitomycine C ont été mis en évidence. Pour le PFOA, ce sont essentiellement des effets antagonistes qui ont été constatés, excepté avec le propylparabène.

2.5 Bilan

Suite à cette synthèse présentant les différentes familles étudiées dans le cadre de ces travaux de thèse, les principaux enjeux concernant chaque classe sont rappelés ci-dessous :

- Pesticides
 - Les pesticides sont utilisés de façon massive par l'agriculture moderne. Des volumes moins importants sont mis en œuvre dans le cadre d'utilisations domestiques ou urbaines, toutefois ces sources de pesticides ne peuvent pas être négligées (études sur les eaux usées notamment).
 - Une fois introduits dans l'environnement, leur devenir est extrêmement complexe. De nombreux produits de transformation sont susceptibles de se former.
 - Leur présence dans tous les compartiments environnementaux, ainsi que leur persistance, sont avérées.

- Suite à leur importante utilisation, des mécanismes de résistance se sont développés chez certains ravageurs (Travlos et al. 2011).
- Ces molécules sont précisément conçues pour avoir un effet toxique.
- Le nombre de molécules employées est très important et varie d'un pays à l'autre en fonction des pratiques et des réglementations locales.
- Composés pharmaceutiques
 - Les composés pharmaceutiques sont utilisés de façon massive en santé humaine et vétérinaire.
 - La problématique est relativement récente et il manque encore des études de présence et de devenir dans l'environnement, en incluant les métabolites et les sous-produits. Malgré tout, une contamination à grande échelle est suspectée.
 - Ces molécules sont conçues pour exercer une action biologique, il est donc nécessaire d'étudier leur impact toxique, en particulier à long terme (chronicité).
 - Le nombre de molécules utilisées est très important, le travail de priorisation est essentiel afin de déterminer les molécules les plus pertinentes, sur la base de données de consommation et/ou de toxicité et/ou de persistance et/ou d'un manque d'informations par exemple.
- Hormones
 - L'enjeu majeur concernant les hormones est leur impact perturbateur endocrinien avéré, même à des concentrations très faibles, proches du niveau environnemental.
 - Leur très faible niveau de concentration rend leur analyse très délicate, en particulier dans les matrices complexes comme les eaux usées ou les boues.
- Composés perfluorés
 - Les composés perfluorés sont utilisés à grande échelle dans des domaines industriels très variés.
 - Leur persistance dans l'environnement et leur bioaccumulation ont mené à leur inclusion progressive dans les réglementations.
 - En conséquence, certaines pratiques industrielles changent et les PFC réglementés sont substitués par d'autres composés perfluorés moins réglementés mais dont la toxicité est méconnue (Berger, 2012).

3. Stratégies d'échantillonnage

Afin d'évaluer l'état de contamination d'une masse d'eau, différentes stratégies de prélèvement peuvent être employées : l'échantillonnage ponctuel, l'échantillonnage moyenné, l'utilisation d'indicateurs biologiques et l'échantillonnage passif. Cette partie vise à présenter chacune de ces techniques et en particulier l'échantillonnage passif qui a été mis en œuvre pour ces travaux.

3.1 Echantillonnage ponctuel

Les rejets intermittents de contaminants (application de pesticides sur un champ, rejets industriels...) et les conditions hydrodynamiques changeantes peuvent conduire à une importante variabilité spatio-temporelle des caractéristiques physico-chimiques d'une masse d'eau. Les deux exemples ci-après illustrent ce phénomène, qui est particulièrement marqué avec les pesticides car l'utilisation de ces produits est rythmée par les saisons et les conditions climatiques. La figure 5 présente les variations de la concentration d'un herbicide, le diuron, dans la rivière Maas entre 2001 et 2005.

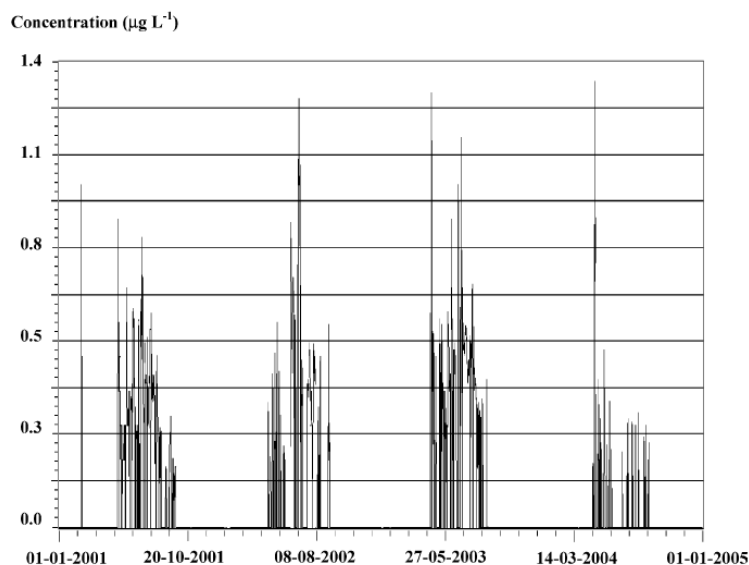


Figure 5 - Variations de la concentration en diuron dans la rivière Maas (Pays-Bas) (Allan et al. 2006)

La figure 6 présente la concentration en atrazine dans une rivière suisse au printemps et en été 1999. Les concentrations sont maximales au mois de juin, ce qui correspond à la période d'application de ce pesticide qui employé pour la culture du maïs.

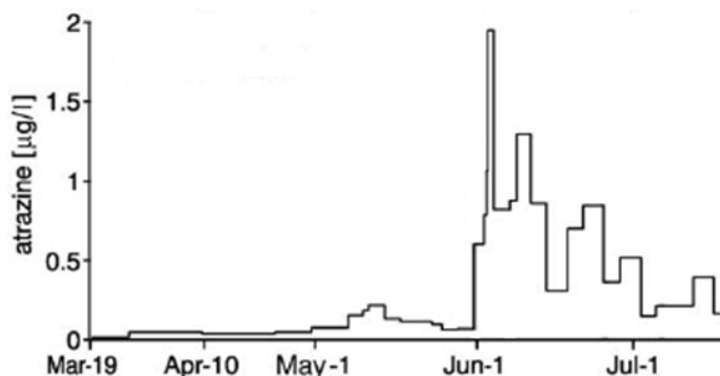


Figure 6 - Variations de la concentration en atrazine dans le rivière Aabach (Suisse) (Gerecke et al. 2002)

L'échantillonnage ponctuel consiste à prélever un volume d'eau à un endroit et   un moment donné. Cette stratégie permet donc d'accéder à la concentration à cet endroit et à ce moment. Or l'échantillon peut être prélevé lors d'un  v nement particulier, comme l'illustrent les deux exemples précédents. Par conséquent la concentration obtenue par échantillonnage ponctuel peut ne pas être représentative de l'état moyen du milieu.

3.2  chantillonnage moyenné

En combinant plusieurs échantillons ponctuels prélevés sur une période de temps donnée, par exemple grâce à un préleveur automatique, il est possible d'obtenir un échantillon dont la concentration s'approche de la valeur moyenne au cours de cette période. Toutefois, l'utilisation de tels équipements requiert une logistique importante, notamment l'accès à l'électricité, et augmente beaucoup le coût d'échantillonnage.

La stabilité de l'échantillon au cours du processus d'échantillonnage peut également poser problème, en particulier les phénomènes de volatilisation de certains composés ou encore l'adsorption sur les parois du récipient recueillant le prélèvement.

Ce mode d'échantillonnage est par exemple préconisé par la circulaire RSDE (Action nationale de recherche et de Réduction des Rejets de Substances Dangereuses dans les Eaux) du 05/01/09 pour le suivi des rejets industriels.

3.3 Utilisation d'organismes biologiques

L'utilisation d'êtres vivants pour évaluer différentes caractéristiques de l'environnement au contact duquel ils vivent n'est pas récente. En effet, dès 1866, Wilhelm Nylander montre le lien entre croissance des lichens et pollution atmosphérique (Górecki et Namie nik 2002).

Deux approches sont dès lors envisageables : les organismes peuvent être utilisés comme bio-indicateurs ou bio-accumulateurs.

Dans le premier cas, il s'agit d'une évaluation qualitative de la qualité de l'environnement. La définition du terme bio-indicateur du Larousse est la suivante : « espèce vivante qui, par sa présence ou son absence, son abondance ou sa rareté, permet d'apprécier le degré de pollution de l'eau ou de

l'air ». Dans le cadre de la DCE par exemple, plusieurs types d'organismes servent de bio-indicateurs pour la qualité écologique du milieu : phytoplancton, macrophytes, algues, phytobenthos, poissons...

L'utilisation d'organismes bio-accumulateurs repose sur la capacité qu'ont certaines espèces à accumuler certains polluants dans leurs tissus. Les organismes sont collectés et les composés d'intérêt sont extraits puis dosés. Il s'agit donc d'une approche quantitative, à l'inverse de la bio-indication. Certains bivalves, comme les moules par exemple, ont été largement utilisés comme bio-accumulateurs car ils filtrent l'eau pour se nourrir et ainsi sont exposés de manière importante aux polluants qui y sont présents (Liscio et al. 2009). Il est également possible d'utiliser des poissons comme les carpes (Verweij et al. 2004) ou des anguilles (Kot et al. 2000).

Cette approche présente plusieurs avantages : les variations de concentrations dans le temps sont lissées, les organismes n'ont pas forcément besoin d'être exposés spécifiquement mais peuvent être collectés directement lors de campagnes d'échantillonnage s'il s'agit d'espèces indigènes, les polluants sont concentrés dans les tissus i.e. plus aisément détectables que simplement dans l'eau, et enfin cette stratégie a un coût très limité.

Mais l'utilisation d'êtres vivants présente certaines limites : une partie des contaminants est en effet métabolisée et excrétée. Par ailleurs, la bioaccumulation est susceptible de varier entre individus de la même espèce (Kingston et al. 2000) et pour un même individu en fonction de son état physiologique. Il est donc complexe d'établir une relation entre la quantité de composés accumulés par l'organisme et la concentration dans l'environnement.

3.4 Echantillonnage passif

3.4.1 Généralités

L'échantillonnage passif, dans son sens le plus large, peut être défini comme un flux spontané de molécules d'un milieu échantillonné vers une phase réceptrice, causé par une différence de potentiel chimique de ces mêmes molécules dans les deux milieux (Vrana et al. 2005).

D'un point de vue pratique, l'échantillonneur est mis au contact du milieu pendant un temps suffisamment long pour qu'il accumule des composés d'intérêt. Il est ensuite rapporté au laboratoire où il subit des étapes d'extraction et d'analyse.

L'échantillonnage passif a été mis au point dans les années 1970. A l'origine, il s'agissait de mesurer des concentrations de polluants dans l'air comme les oxydes d'azote par exemple. Le capteur passif est placé au contact de l'air que l'on souhaite étudier, les molécules d'intérêt sont piégées au sein du dispositif qui est ensuite analysé au laboratoire. Il peut également être porté sous forme de badge ou de tube par une personne dont on veut mesurer l'exposition, par exemple sur son lieu de travail.

La technique d'échantillonnage passif s'est rapidement étendue au domaine de l'analyse des micropolluants présents dans les eaux. La figure 7 présente l'évolution du nombre de publications sur les échantillonneurs passifs appliqués à l'étude de la contamination des eaux.

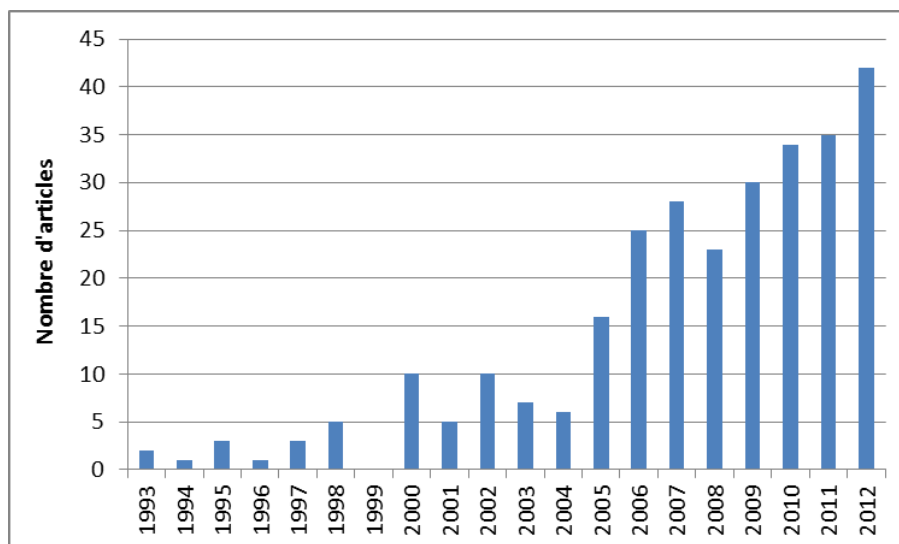


Figure 7 - Evolution du nombre d'articles scientifiques publiés au cours des 20 dernières années dans des revues à comité de lecture sur la thématique de l'échantillonnage passif dans les eaux

Ces résultats ont été obtenus après une recherche dans la base de données Scopus en indiquant les termes « passive sampling » et « water », à rechercher dans le titre, le résumé et les mots-clés, en sélectionnant les thèmes suivants : « Environmental Science », « Chemistry », « Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics », « Earth and Planetary Science », « Agricultural and Biological Sciences » et « Multidisciplinary », et en éliminant les revues de médecine ou d'ingénierie.

Cette stratégie d'échantillonnage commence à être prise en considération dans les textes réglementaires. A cet effet, il convient de mentionner la révision de la DCE d'août 2013 (Directive 2013/39/UE) qui précise au paragraphe 18 : « De nouvelles méthodes de surveillance, telles que l'échantillonnage passif [...], semblent prometteuses et il convient dès lors de les développer ».

3.4.2 Cinétique d'accumulation

L'accumulation d'un composé par un échantillonneur passif peut être décrite par une loi cinétique du premier ordre (Vrana et al. 2005) :

$$\frac{dC_S}{dt} = k_u C_w - k_e C_S \quad \text{Equation 1}$$

Avec : C_S : concentration dans l'échantillonneur passif ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
 C_w : concentration dans l'eau ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
 k_u : constante d'accumulation ($\text{L.g}^{-1}.\text{j}^{-1}$)
 k_e : constante d'élimination (j^{-1})
 t : temps (j)

Cette équation admet pour solution :

$$C_S = C_w \frac{k_u}{k_e} (1 - e^{-k_e t}) \quad \text{Equation 2}$$

L'accumulation d'un composé dans un échantillonneur passif suit deux régimes (Figure 8) : le régime cinétique au cours de la période d'exposition initiale et le régime après atteinte de l'équilibre (plateau).

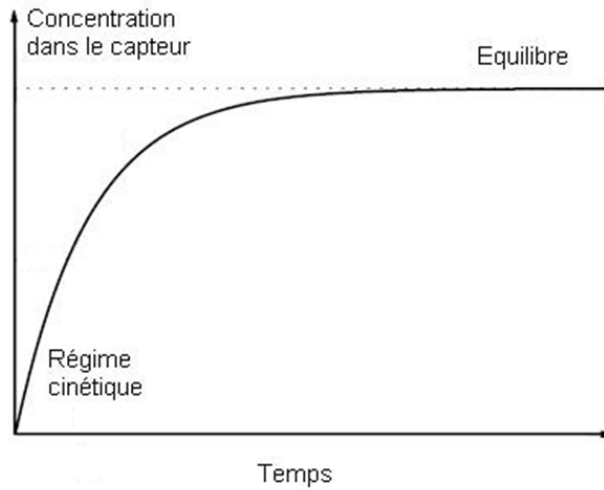


Figure 8 - Accumulation d'un composé dans un échantillonneur passif au cours du temps

3.4.2.1 Régime cinétique

Au début de l'exposition, les phénomènes d'accumulation vont dominer les phénomènes de dissipation. Par conséquent, la constante d'élimination peut être considérée comme négligeable par rapport à la constante d'accumulation. L'Equation 1 se simplifie en :

$$\frac{dC_S}{dt} = k_u C_w \quad \text{Equation 3}$$

Qui admet pour solution :

$$C_S = k_u C_w t \quad \text{Equation 4}$$

La concentration dans l'échantillonneur est directement proportionnelle au temps (à condition que la concentration dans l'eau soit stable), ce régime est donc parfois appelé « régime cinétique » (Booij et al. 2007). Cette dernière relation peut être écrite de la manière suivante, en introduisant le taux d'échantillonnage R_s (Alvarez et al. 2007):

$$C_S m = R_s C_w t \quad \text{Equation 5}$$

Avec : m : masse de phase réceptrice (g)
 R_s : taux d'échantillonnage ($L \cdot j^{-1}$)

Macroscopiquement, le taux d'échantillonnage peut être interprété comme le volume d'eau concentré par l'échantillonneur par unité de temps (Vrana et al. 2005). Il est spécifique de chaque

molécule et dépend de certaines conditions expérimentales (agitation, température...). Conventionnellement, c'est ce paramètre qui est le plus utilisé dans l'approche de l'échantillonnage passif.

3.4.2.2 Atteinte de l'équilibre

Après un temps suffisamment long, l'équilibre thermodynamique entre l'échantillonneur et le milieu est atteint (Vrana et al. 2005). Dans ce cas, l'Equation 1 devient :

$$k_u C_w - k_e C_s = 0 \quad \text{Equation 6}$$

Ou encore :

$$\frac{k_u}{k_e} = \frac{C_s}{C_w} = K_{sw} \quad \text{Equation 7}$$

Avec : K_{sw} : coefficient de partage entre l'échantillonneur passif et l'eau (L.g⁻¹).

3.4.2.3 Applications

Un échantillonneur passif peut être utilisé de deux manières distinctes : soit dans la zone d'équilibre avec le milieu, soit dans la zone d'accumulation linéaire (Vrana et al. 2005). Chacune de ces approches fournit des informations différentes :

- A l'équilibre avec le milieu

Une fois l'équilibre atteint, le rapport des concentrations entre l'échantillonneur passif et le milieu est gouverné par la constante de partage K_{sw} (Equation 7). Si la concentration dans l'eau fluctue, la quantité de composés piégés par l'échantillonneur va varier de manière proportionnelle. Au moment du retrait du capteur et si ces constantes de partage sont connues, il est donc possible de remonter à la **concentration dans l'eau au moment du retrait**. Pour cela il faut aussi que l'outil soit suffisamment réactif, avec une durée d'atteinte de l'équilibre inférieure à la durée typique de fluctuation des concentrations dans le milieu (Morin et al. 2012).

- Dans la zone d'accumulation linéaire

Au début de l'exposition, l'accumulation des composés dans l'échantillonneur varie en fonction de la concentration dans l'eau. Si par exemple la concentration d'un composé augmente ponctuellement, il va être accumulé de manière plus importante dans l'outil, et ce d'autant plus que ce « pic » va être long. En d'autres termes, un épisode ponctuel sera « intégré » par l'échantillonneur (Vrana et al. 2005). Pour cette raison, ce régime est parfois qualifié d'intégratif (Booij et al. 2007). Travailler en régime cinétique présente donc un intérêt majeur : des concentrations dans l'eau **moyennées sur la période d'exposition** (*time-weighted average (TWA)*) peuvent être déterminées.

Cette approche présente plusieurs avantages : d'une part la possibilité d'intégrer un épisode de courte durée, alors que la probabilité de le détecter est très faible avec un échantillonnage ponctuel ou un échantillonneur passif à l'équilibre ; d'autre part le fait d'avoir des concentrations moyennées sur la

durée permet d'évaluer de manière plus pertinente un état moyen de contamination chimique du milieu.

4. Types d'échantillonneurs passifs existants

Ce paragraphe a pour but de présenter les principaux types d'échantillonneurs passifs utilisés pour l'étude de milieux aquatiques. Le design de chaque outil est tout d'abord décrit, puis les composés qu'il permet d'échantillonner sont précisés avec quelques exemples illustratifs tirés de la bibliographie.

Comme ces travaux de thèse ont été essentiellement consacrés à l'étude du POCIS, ce dernier échantillonneur fait l'objet d'un paragraphe spécifique dans lequel il sera présenté plus en détail.

4.1 Le SPMD (Semi-Permeable Membrane Device)

4.1.1 Conception de l'échantillonneur

En 1990, Huckins et al. présentent le SPMD (*SemiPermeable Membrane Device*). Il s'agit d'une membrane non poreuse de PolyÉthylène Basse Densité (PEBD), qui renferme environ 1 mL de trioléine, un lipide synthétique de haut poids moléculaire. Le PEBD possède des cavités de très faible diamètre, de l'ordre de 1 nm, ce qui laisse penser que les molécules échantillonnées correspondent à la fraction dissoute (Vrana et al. 2005). Le schéma ci-dessous (Figure 9) présente une des configurations possibles lors du déploiement d'un SPMD en milieu naturel.

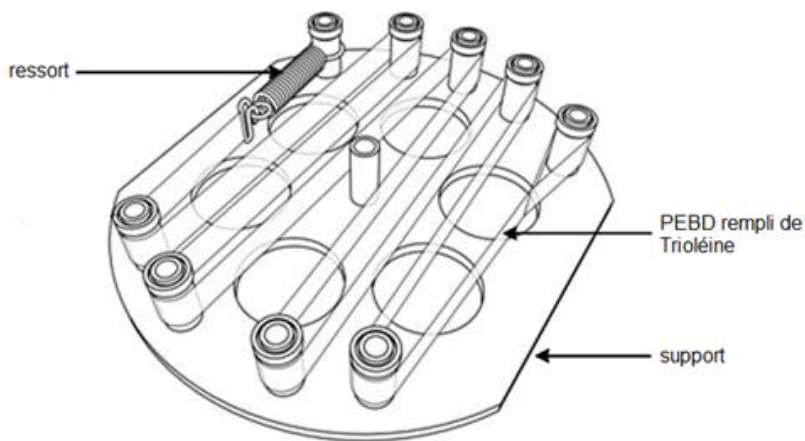


Figure 9 - Echantillonneur passif de type SPMD (Seethapathy et al. 2008)

Après l'exposition, les composés piégés par le dispositif sont extraits, soit par dialyse, soit par extraction par solvant de la membrane et de la trioléine (Seethapathy et al. 2008). Des étapes de purification sont nécessaires pour éliminer les interférents contenus dans le dialysat. La chromatographie d'exclusion stérique permet d'éliminer les oligomères du polyéthylène (Petty et al. 2000) mais de l'acide oléique et du méthyloléate (de l'ordre de quelques centaines de microgrammes d'après Lebo et al. 2004) peuvent subsister et poser des problèmes analytiques (Lebo et al. 2004).

Il s'agit actuellement de la technologie de capteurs passifs la plus mature. Plusieurs centaines d'études sur cet outil et ses applications ont été publiées.

4.1.2 Classes de composés ciblés

Le SPMD est conçu pour échantillonner les polluants hydrophobes présents dans l'eau. D'après Stuer-Lauridsen (2005), ce type d'échantillonneur est particulièrement indiqué pour les composés dont le $\log K_{ow}$ (logarithme du coefficient de partage entre l'octanol et l'eau) est supérieur à 3, comme par exemple les polychlorobiphényles (PCB), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les pesticides organochlorés ou encore les dioxines et les furanes.

Le tableau 4 présente quelques exemples d'applications *in-situ* des SPMD, issus de la littérature.

Tableau 4 - Exemples de travaux sur les SPMD publiés dans la littérature

Matrice	Classe de polluants ciblés	Référence
Eaux usées	HAP, nonylphénols	Stuer-Lauridsen et Kjølholt (2000)
Eau de mer	HAP, PCB, pesticides organochlorés	Karacık et al. (2013)
Eau douce	HAP, PCB, pesticides organochlorés	Verweij et al. (2004)
Eau douce	HAP, PCB, pesticides organochlorés	Wang et al. (2009)
Effluent de papeterie	Dioxines, furanes	Charlestra et al. (2008)

4.2 Le disque Empore®

Les disques Empore® sont des filtres recouverts d'un adsorbant, par exemple de type C_8 , C_{18} , ou encore SDB-RPS (Styrène Divinylbenzène – Reversed Phase Sulfonated). Ils sont généralement utilisés pour échantillonner les composés relativement hydrophobes.

De par l'absence de membrane séparant le milieu du matériau, l'équilibre est atteint très rapidement. Un tel type de capteur n'est donc pas adapté à un déploiement sur le terrain pendant des durées importantes. Son utilisation est limitée aux essais en laboratoire (Stuer-Lauridsen 2005). Il existe une version alternative comportant une membrane : le Chemcatcher.

4.3 Le Chemcatcher®

4.3.1 Conception de l'échantillonneur

Kingston et al. ont mis au point le Chemcatcher® en 2000. Leur échantillonneur comprend un disque Empore® de 47 mm, séparé cette fois du milieu par une membrane. Par conséquent, il peut être exposé sur site pendant des périodes plus longues avant d'atteindre l'équilibre. Des domaines de linéarité allant jusqu'à 9 jours (Kingston et al. 2000) voire 15 jours (De la Cal et al. 2008) ont été rapportés.

La figure 10 présente la configuration du Chemcatcher[®] telle que décrite par Vrana et al. (2006). Seule la face inférieure du capteur est exposée. Ainsi, cela permet de minimiser l'accumulation de matière en suspension sur la surface de la membrane (Kingston et al. 2000).

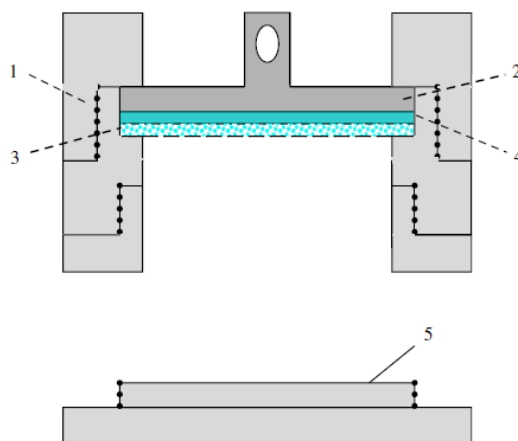


Figure 10 - Échantillonneur de type Chemcatcher[®] (Vrana et al. 2006)

1 et 2 : support en PTFE, 3 : membrane, 4 : phase adsorbante, 5 : protection avant utilisation

Lobpreis et al. (2008) ont proposé une légère modification de ce design en réduisant la hauteur des montants latéraux en PTFE (polytétrafluoroéthylène).

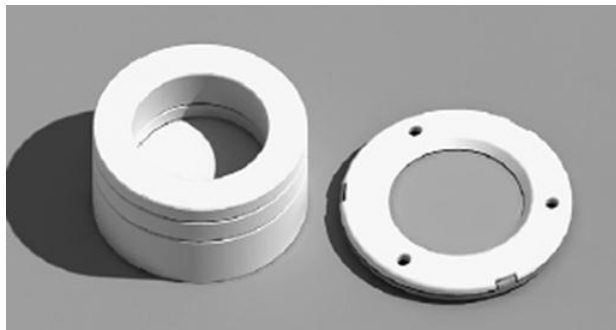


Figure 11 - Comparaison de la première et de la seconde version du Chemcatcher[®] (Lobpreis et al. 2008)

La géométrie de la première version du Chemcatcher[®] (Figure 10) réduisait l'agitation de l'eau autour de la membrane et la phase réceptrice. Or, l'accumulation des composés dans cet échantillonneur est principalement limitée par la couche de diffusion autour de la membrane (Vrana et al. 2006). Le nouveau design permet donc de bénéficier d'une agitation des masses d'eau autour de la membrane plus importante, ce qui augmente le transfert des analytes vers la phase réceptrice, améliorant ainsi la sensibilité associée à ce mode d'échantillonnage.

Après l'exposition, la phase adsorbante est recueillie et extraite avec un solvant organique, et l'extrait est analysé.

4.3.2 Classes de composés ciblés

Suivant la nature de la membrane utilisée, différents types de composés peuvent la traverser et donc être échantillonnés. Une membrane en polyéthersulfone est particulièrement adaptée aux composés relativement polaires ($\log K_{ow}$ entre 2 et 4), alors qu'une membrane en polyéthylène sera préférentiellement utilisée pour échantillonner des molécules apolaires ($\log K_{ow} > 4$), d'après Seethapathy et al. (2008), et Ouyang et Pawliszyn (2007).

La figure 12 présente les résultats d'une exposition de Chemcatcher®, équipés de différentes membranes (Kingston et al. 2000). Les échantillonneurs ont été exposés en laboratoire durant 48h à une eau contaminée en polluants variés en termes de polarité ($\log K_{ow}$ compris entre 2,2 et 6,9). Les facteurs d'accumulation, définis comme le rapport de la masse d'analyte accumulée dans la phase sur la concentration moyenne de l'analyte dans l'eau, obtenus dans les différentes configurations, sont représentés sur la figure 12.

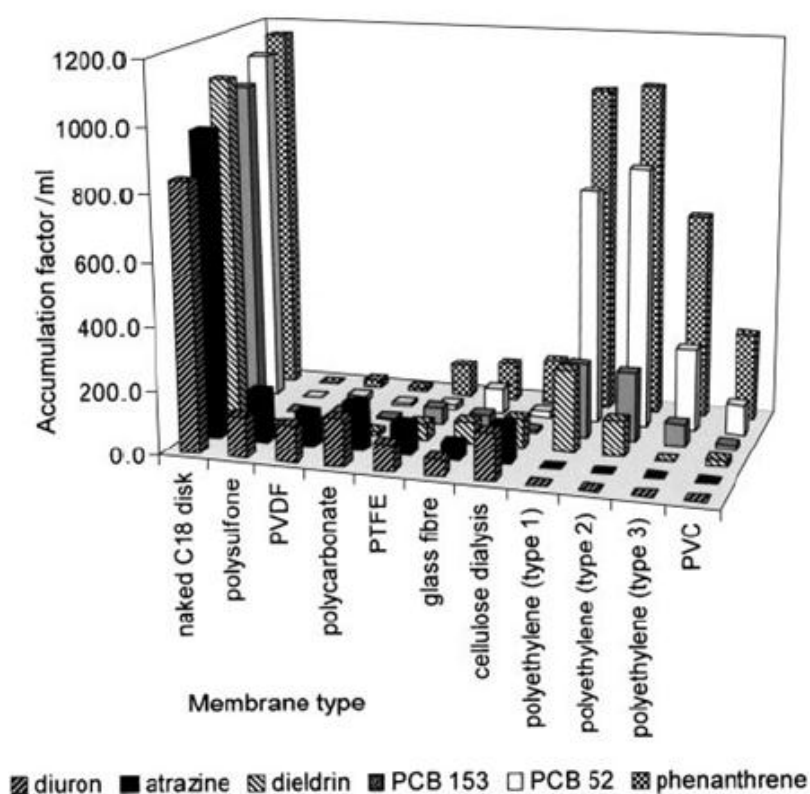


Figure 12 - Effet de la nature de la membrane sur l'accumulation de composés organiques dans la phase réceptrice du Chemcatcher® (Kingston et al. 2000)

Ces résultats confirment que l'accumulation dans la phase adsorbante est sélective grâce à la membrane la séparant du milieu. En l'absence de membrane (« naked C18 disk » sur la figure 12), tous les composés sont échantillonnés. Les membranes les plus polaires (polysulfone, polyfluorure de vinylidène ou PVDF, polycarbonate) permettent le passage des composés relativement polaires (diuron et atrazine, qui ont un $\log K_{ow}$ d'environ 2-3). En revanche, les membranes apolaires (polyéthylène, polychlorure de vinyle ou PVC) sont à utiliser préférentiellement pour l'échantillonnage de composés apolaires comme les PCB ou les HAP.

Le tableau 5 présente quelques exemples d'applications *in-situ* des Chemcatcher® décrits dans la littérature.

Tableau 5 - Exemples de travaux sur les Chemcatcher® dans la littérature

Matrice	Classe de polluants ciblés	Référence
Eau de surface	Pesticides	Schäfer et al. (2008)
Eau de mer	Pesticides, PCB, phénanthrène	Kingston et al. (2000)
Eau de surface	HAP	Vrana et al. (2007)
Eau de surface	Mercure	Aguilar-Martínez et al. (2009)

4.4 Le silicone (PDMS)

4.4.1 Conception de l'échantillonneur

En 2007, Rusina et al. ont comparé les propriétés de différents polymères, dans l'optique de les utiliser pour l'échantillonnage passif de composés organiques. Ces auteurs concluent que le silicone de marque Altesil constitue le meilleur choix en termes de propriétés physico-chimiques. C'est ce type de silicone qui est depuis classiquement mis en œuvre par les utilisateurs d'échantillonneurs passifs.

Le silicone (ou PDMS, polydiméthylsiloxane) est disponible commercialement à un prix très modéré. Le modèle retenu par Rusina et al. (2007) a une épaisseur de 0,5 mm, et est vendu sous forme de grandes plaques (30 cm x 30 cm).

Le principe de cet échantillonneur repose sur des mécanismes de diffusion des composés organiques dans le polymère (Rusina, 2009). La quantité de composé qui est accumulée à l'équilibre par le silicone est régie par la constante de partage entre l'échantillonneur et l'eau : K_{sw} . Cette constante a été reliée au $\log K_{ow}$ par Doong et Chang (2000) selon la formule suivante :

$$\log K_{sw}(PDMS) = 0,82 \log K_{ow} + 0,24 \quad \text{Equation 8}$$

En première approche, plus un composé est hydrophobe, plus il va être accumulé dans l'échantillonneur en silicone.

Après exposition, le silicone est extrait par solvant, soit par dialyse, soit aux ultrasons ou encore au Soxhlet. Comme aucune membrane ne sépare la phase réceptrice du milieu, le silicone est susceptible d'accumuler une quantité importante d'interférents, une purification est donc généralement nécessaire. A titre d'exemple, Rusina (2009) conseille d'effectuer une purification sur une phase C_{18} . Cette étape supplémentaire n'est que peu consommatrice de temps et de solvants, et permet d'éliminer en particulier les composés de haut poids moléculaire (oligomères, lipides...) qui sont susceptibles d'affecter l'analyse (Rusina, 2009).

4.4.2 Classes de composés ciblés

Ce type d'échantillonneur passif cible les composés plutôt hydrophobes. Toutefois, la gamme de molécules captées semble être relativement large car dans l'étude de Emelogu et al. (2013), des pesticides dont le $\log K_{ow}$ est inférieur à 3 (métazachlor, diuron) sont échantillonnés par cet outil.

Tableau 6 - Exemples de travaux sur les échantillonneurs en silicone dans la littérature

Matrice	Classe de polluants ciblés	Référence
Eau de surface	HAP, PCB, pesticides organochlorés	Prokeš et al. (2012)
Eau de mer	HAP, PCB	Monteyne et al. (2013)
Eau de surface	HAP, PCB, pesticides	Emelogu et al. (2013)

4.5 Autres types d'échantillonneurs passifs

De nombreux autres types de capteurs passifs ont été mis au point et étudiés. Le tableau 7 en présente quelques-uns.

Tableau 7 - Exemples d'échantillonneurs passifs existants (d'après Vrana et al. 2005)

Echantillonneur	Design	Composés ciblés	Durée d'exposition typique
Dosimètre céramique	Tube en céramique rempli d'un adsorbant	HAP, BTEX, chloroalcane	Jusqu'à 1 an
Membrane PEBD	Polyéthylène basse densité	Composés organiques hydrophobes	1 mois
MESCO (Membrane-Enclosed sorptive coating)	Barreau SBSE recouvert de PDMS, placé dans une membrane de cellulose	HAP, PCB, pesticides organochlorés	2 semaines
Nd-SPME (Negligible depletion-solid phase microextraction)	Fibre SPME recouverte d'un adsorbant à définir selon les composés ciblés	Composés organiques hydrophobes	Quelques heures
PDB (Passive Diffusion Bag samplers)	Membrane de dialyse ou LDPE remplie d'eau distillée	Composés organiques polaires, COV, métaux	2 semaines
SPATT (Solid-phase Adsorption Toxin Tracking)	Membrane en polyester contenant un copolymère de styrène-divinylbenzène	Microcystines algales	1 semaine
Passive SBSE	Barreau SBSE recouvert de PDMS	Pesticides	1-2 semaines

5. Le POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler)

5.1 Conception du POCIS

En 1999, le POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) est décrit par Alvarez dans ses travaux de thèse (Alvarez, 1999). Il présente pour la première fois cet échantillonneur, comportant un mélange de 3 adsorbants : Isolute ENV+ (copolymère de styrène/divinylbenzène, 80%), Ambersorb 1500 carbon (charbon actif) dispersé sur S-X3 Bio Beads (copolymère d'exclusion stérique, SDB réticulé), 20%.

Cette phase solide est séparée du milieu par deux membranes en polyéthersulfone (PES), dont les pores font 0,1 μm de diamètre.

L'ensemble est maintenu grâce à deux disques en inox. Le dispositif est présenté sur la figure 13 :

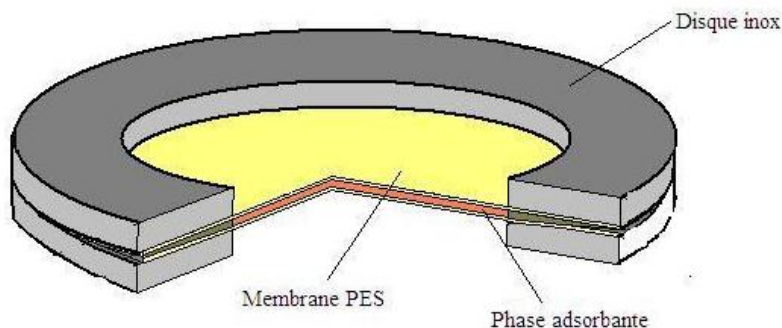
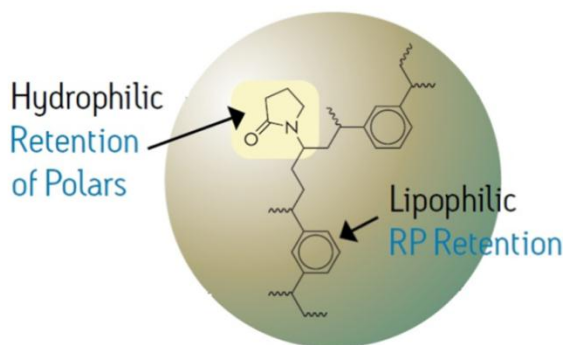


Figure 13 - Design d'un POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler)

Une telle configuration est souvent nommée « Pesticides » dans la littérature. Ce dispositif a été breveté en mars 2002 par Petty, Huckins et Alvarez.

Une seconde configuration dénommée « Pharm » a été développée (Alvarez et al. 2004) en utilisant de la phase Oasis HLB (Poly[divinylbenzène]-co-N-vinylpyrrolidone) comme phase réceptrice (Figure 14).



Surface spécifique : 810 m^2/g

Diamètre moyen des pores : 80 Å

Diamètre moyen des particules : 60 μm

Volume total des pores : 1,3 cm^3/g

Figure 14 - Structure moléculaire et spécifications de la phase Oasis HLB (www.waters.com)

La présence de deux types de groupements fonctionnels permet de retenir des composés ayant une large gamme de propriétés physico-chimiques. Les groupements N-vinylpyrrolidone permettent de retenir les composés relativement polaires, alors que les groupements divinylbenzène ont une forte

affinité pour les composés organiques apolaires. Le POCIS contient classiquement 200 mg de phase adsorbante.

5.2 Transfert vers la phase adsorbante

Le transport d'un composé depuis un milieu échantillonné vers la phase réceptrice d'un POCIS peut être décomposé en différentes étapes, en ne considérant pas l'existence d'un potentiel biofilm sur le POCIS (Alvarez et al. 2007) :

- Diffusion du milieu vers la couche limite statique d'eau entourant le POCIS (*water boundary layer, WBL*)
- Diffusion à travers cette couche limite d'eau, dont l'épaisseur varie avec l'agitation du milieu
- Perméation à travers la membrane microporeuse en PES. Plusieurs modes de transfert peuvent intervenir, parmi lesquels la diffusion à travers les pores de la membrane remplis d'eau, ou la diffusion au sein du polymère (Alvarez et al. 2007)
- Diffusion jusqu'aux particules de la phase réceptrice
- Adsorption sur la phase réceptrice

Les différents compartiments impliqués dans le transfert d'un composé vers la phase réceptrice d'un POCIS sont représentés sur la figure 15.

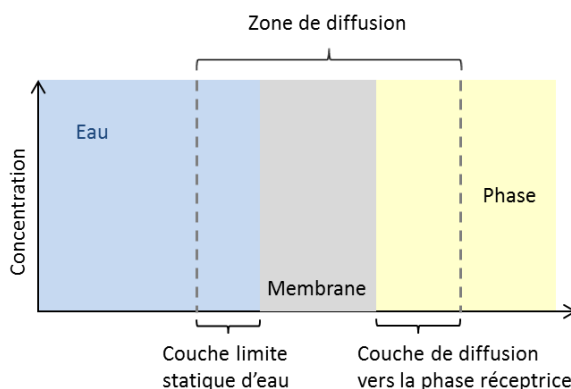


Figure 15 - Compartiments observés autour de la membrane d'un échantillonneur passif (Seethapathy et al. 2008)

Deux étapes sont considérées comme potentiellement limitantes par rapport au transfert vers la phase réceptrice : la diffusion à travers la couche limite d'eau et le passage à travers la membrane. Lorsque le milieu est suffisamment agité, l'épaisseur de la couche limite diminue. La diffusion à travers cette couche statique est alors négligeable devant le transfert à travers la membrane qui devient le facteur limitant l'accumulation dans le POCIS (Harman et al. 2012b).

En outre, la présence de la membrane discrimine les composés qui vont être échantillonnés selon des critères physiques : la taille des pores de la membrane va permettre uniquement aux composés de taille inférieure au diamètre des pores d'atteindre la phase réceptrice. Les molécules liées aux matières en suspension, aux colloïdes ou aux acides humiques, de taille supérieure à la taille des pores, ne vont pas traverser cette barrière (Söderström et al. 2009).

5.3 Classes de composés ciblés et matrices échantillonnées

Les caractéristiques de cet échantillonneur lui permettent de cibler des molécules relativement polaires ($0 < \log K_{ow} < 3-4$). Le POCIS peut être utilisé dans des matrices très diverses (eau usée, eau de surface, eau de mer). Quelques exemples sont donnés dans le tableau 8.

Tableau 8 - Classes de composés échantillonnés par le POCIS

Classes de composés	Matrice	Références
Pesticides	Eau de surface	Lissalde et al. (2011)
	Eau de mer	Munaron et al. (2012)
Composés pharmaceutiques	Eau usée, eau de surface	MacLeod et al. (2007)
	Eau usée, eau de surface	Zhang et al. (2008)
	Eau estuarienne	Togola et Budzinski (2007)
Hormones	Eau usée, eau de surface	Arditsoglou et Voutsa (2008)
	Eau de surface	Li et al. (2010a)
	Eau de surface	Matthiessen et al. (2006)
	Eau de surface	Zhang et al. (2008)
Alkylphénols	Eau industrielle	Harman et al. (2011b)
	Eau usée, eau de surface	Arditsoglou et Voutsa (2008)
Filtres UV	Eau de surface	Fent et al. (2010)
Composés perfluorés	Eau usée	Fedorova et al. (2013)
	Eau de surface	Kaserzon et al. (2012)

5.4 Détermination des taux d'échantillonnage

Après exposition d'un échantillonneur passif dans le milieu, l'analyse instrumentale fournit une concentration de composés dans cet échantillonneur. L'Equation 5 (page 62) établit un lien entre la concentration d'un composé dans un POCIS (M_s), la concentration dans l'eau (C_w), le temps d'exposition (t) et le taux d'échantillonnage (R_s) selon la formule : $M_s = C_w R_s t$.

Pour pouvoir estimer une concentration dans l'eau, il est donc nécessaire de connaître le taux d'échantillonnage des composés recherchés. Ces constantes, caractéristiques de chaque molécule et des conditions expérimentales, peuvent être soit tirées de la littérature soit déterminées expérimentalement.

Les taux d'échantillonnage d'environ 200 molécules figurent dans la littérature et sont compris entre 0,001 L/j et 2,459 L/jour (Morin et al. 2012). Généralement, ils sont inférieurs à 1 L/j.

Pour déterminer les taux d'échantillonnage expérimentalement, un essai dit de « calibration » est mis en œuvre. Il s'agit d'exposer, dans des conditions contrôlées, des POCIS à une eau contenant les composés d'intérêt (soit une eau dopée, soit une eau les contenant naturellement). En connaissant les concentrations des composés dans l'eau et en suivant généralement l'accumulation dans les POCIS, il est possible d'estimer les taux d'échantillonnage.

Différents modes de calibration sont possibles, dont les principales caractéristiques sont présentées dans le tableau 9.

Tableau 9 - Description des méthodes de calibration des POCIS classiquement utilisées dans la littérature (Harman et al. 2012a)

Méthode	Caractéristiques	Principaux avantages	Principaux inconvénients
Renouvellement régulier de l'eau dopée <i>Static renewal</i>	<ul style="list-style-type: none"> Renouvellement régulier de l'eau d'exposition Mesure de la concentration dans l'eau à chaque renouvellement, et dans les POCIS 	<ul style="list-style-type: none"> Simplicité Possibilité de tester de nombreuses conditions expérimentales facilement 	<ul style="list-style-type: none"> Nombre d'échantillons important Estimation des taux d'échantillonnage complexe lorsque les concentrations varient de manière significative
Dopage initial de l'eau <i>Static depletion</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dopage de l'eau initialement (concentrations importantes) Mesure de la diminution de concentration dans l'eau 	<ul style="list-style-type: none"> Simplicité Possibilité de tester de nombreuses conditions expérimentales facilement Nombre d'échantillons limité Faible coût 	<ul style="list-style-type: none"> Concentrations de départ non réalistes Faible volume i.e. difficulté de tester certains paramètres comme le débit d'eau Nécessité d'évaluer les pertes par les autres biais que l'adsorption par les POCIS (volatilisation, dégradation, adsorption aux parois, accumulation dans les membranes des POCIS)
Flux continu <i>Flow-through</i>	<ul style="list-style-type: none"> Flux continu d'eau dopée Mesure de la concentration dans l'eau et dans les POCIS 	<ul style="list-style-type: none"> Exposition à des concentrations relativement constantes Possibilité d'exposer un grand nombre de POCIS dans des conditions identiques Possibilité de réaliser des calibrations sur des durées plus longues 	<ul style="list-style-type: none"> Mise en œuvre assez complexe Volumes d'eau importants Quantité de composés importante Génération d'une grande quantité d'eau dopée qu'il faut retraiter
<i>In-situ</i>	<ul style="list-style-type: none"> Exposition sur site Mesure de la concentration dans l'eau et dans les POCIS 	<ul style="list-style-type: none"> Simplicité Conditions expérimentales très proches de celles obtenues lors d'un déploiement réel 	<ul style="list-style-type: none"> Nécessité de prélever l'eau très régulièrement (préleveur automatique) Nécessité que les composés d'intérêt soient présents dans le milieu Estimation des taux d'échantillonnage complexe lorsque les concentrations varient beaucoup

Le tableau 10 récapitule les conditions expérimentales de calibration, ainsi que les taux d'échantillonnage déterminés dans la littérature pour les molécules ciblées dans le cadre de cette thèse. Pour certains composés, le taux d'échantillonnage n'a parfois pas pu être déterminé par les auteurs, généralement pour cause d'accumulation curvilinéaire. Dans ce cas, ils sont indiqués par « NA » dans le tableau 10.

Afin de pouvoir comparer les conditions expérimentales mises en œuvre par les différents auteurs, seules les calibrations réalisées en laboratoire y figurent.

Tableau 10 - Taux d'échantillonnage publiés dans la littérature pour les molécules ciblées dans le cadre de ces travaux

- Composés pharmaceutiques

Molécules	Rs (L/jour) (écart-type)	Référence	Type de calibration	Concentration	Agitation	Température	Durée calibration	Matrice	Salinité	Caractéristiques du POCIS
Bézafigurate	0,146 (0,034)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
Carbamazépine	0,66	Togola et Budzinski 2007	Béchers de 2 L, eau dopée renouvelée quotidiennement	0,5-10 µg/L	Barreau magnétique	15°C	7-14-21 j	Eau ultrapure	0 PSU	POCIS Pharm achetés chez Exposmeter
	0,64					21°C	7j			
	0,3					21°C	7j			
	0,348 (0,116)	MacLeod et al. 2007	Béchers de 3 L, eau dopée renouvelée 4 fois pendant calibration	1 µg/L	3-12 cm/s, barreau magnétique	28°C	25j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm offerts par EST (45,8 cm², 200 mg)
	0,112 (0,023)		Béchers de 3 L, eau dopée renouvelée 3 fois pendant calibration	1 µg/L	Aucune	22°C	29j			
	0,230 (0,016)	Li et al. 2010a	Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée	2-10 µg/L	800-900 rpm	5°C	8j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm achetés chez EST (200 mg)
	0,397 (0,018)				800-900 rpm	15°C				
	0,561 (0,024)				800-900 rpm	25°C				
	0,235 (0,046)				60 rpm	25°C				
	0,226 (0,028)	Li et al. 2011	Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 3	2-10 µg/L	Agitation modérée	25°C	8j	Eau du robinet déchlorée		POCIS Pharm achetés chez EST (41 cm², 200 mg)
	0,354 (0,042)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 7							
	0,372 (0,003)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 9							
	0,360 (0,037)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, MOD 3,33mg/L							
	0,417 (0,075)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, MOD 3,86mg/L							
	0,404 (0,012)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, MOD 4,92mg/L							
	0,188 (0,005)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
	0,14 (0,03)	Belles et al. 2013	Aquarium de 250 L, eau dopée en flux continu	0,1 µg/L	Non précisé	20°C	18j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
Diclofénac	0,16	Togola et Budzinski	Béchers de 2 L, eau dopée renouvelée quotidiennement	0,5-10 µg/L	Barreau magnétique	15°C	7-14-21 j	Eau ultrapure	0 PSU	POCIS Pharm achetés chez
	0,22					21°C	7j			

Molécules	Rs (L/jour) (écart-type)	Référence	Type de calibration	Concentration	Agitation	Température	Durée calibration	Matrice	Salinité	Caractéristiques du POCIS
	0,24	2007				21°C	7j		35 PSU	Exposmeter
	0,166 (0,052)	MacLeod et al. 2007	Béchers de 3 L, eau dopée renouvelée 4 fois pendant calibration	1 µg/L	3-12 cm/s, barreau magnétique	28°C	25j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm offerts par EST (45,8 cm², 200 mg)
	0,092 (0,055)		Béchers de 3 L, eau dopée renouvelée 3 fois pendant calibration	1 µg/L	Aucune	22°C	29j			
	0,225 (0,009)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
Sulfaméthoxazole	NA	MacLeod et al. 2007	Béchers de 3 L, eau dopée renouvelée 4 fois pendant calibration	1 µg/L	3-12 cm/s, barreau magnétique	28°C	25j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm offerts par EST (45,8 cm², 200 mg)
	NA		Béchers de 3 L, eau dopée renouvelée 3 fois pendant calibration	1 µg/L	Aucune	22°C	29j			
	0,291 (0,004)	Li et al. 2010a	Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée	2-10 µg/L	800-900 rpm	5°C	8j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm achetés chez EST (200 mg)
	0,348 (0,049)				800-900 rpm	15°C				
	0,339 (0,057)				800-900 rpm	25°C				
	0,202 (0,019)				60 rpm	25°C				
	0,220 (0,008)	Li et al. 2011	Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 3	2-10 µg/L	Agitation modérée	25°C	8j	Eau du robinet déchlorée		POCIS Pharm achetés chez EST (41 cm², 200 mg)
	NA		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 7							
	NA		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 9							
	0,156 (0,001)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, MOD 3,33 mg/L							
	0,186 (0,006)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, MOD 3,86 mg/L							
	0,303 (0,010)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, MOD 4,92 mg/L							
	0,093 (0,012)	Bailly et al. 2013	Récipient en acier inox de 20 L, eau dopée renouvelée tous les deux jours	10 µg/L	29 cm/s	15°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm achetés chez Exposmeter (200 mg)
	0,113 (0,016)				29 cm/s	20°C				
	0,085 (0,008)				29 cm/s	25°C				
	0,092 (0,004)				29 cm/s	20°C				
	0,030 (0,003)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)

• Pesticides

Molécules	Rs (L/jour) (écart-type)	Référence	Type de calibration	Concentration	Agitation	Température	Durée calibration	Matrice	Salinité	Caractéristiques du POCIS
Atrazine	0,228	Lissalde et al. 2011	Aquarium de 80 L, eau dopée renouvelée au jour 12	1 µg/L	2-3 cm/s	17°C	24j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,239	Mazzella et al. 2007	Aquarium de 80 L, eau non renouvelée	1-2 µg/L	2-3 cm/s	17°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,214	Martínez Bueno et al. 2009	Bechers de 2 L, eau dopée renouvelée quotidiennement	0,5 µg/L	Agité	21°C	7j	Eau de mer artificielle		POCIS Pharm achetés chez Exposmeter
	0,240	Alvarez et al. 2007	Récipients en verre de 10L, eau dopée renouvelée quotidiennement	10 µg/L	Agité	ND	5j	ND		POCIS Pest 41 cm²
	0,263 (0,003)	Fauvelle et al. 2012	Aquarium de 80 L Dopage initial et à 10 jours pour les composés dont $c_{10} < 0,7 c_0$	0,8 – 3 µg/L	5-8 cm/s	19-23°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,252 (0,004)							Eau de rivière + 50 mg/L Nitrate		
	0,189 (0,006)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
	0,30 (0,09)	Belles et al. 2013	Aquarium de 250 L, eau dopée en flux continu	0,1 µg/L	Non précisé	20°C	18j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
DEA	0,2538	Ibrahim et al. 2013	Aquarium de 100 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	11,5 cm/s	21°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,173	Lissalde et al. 2011	Aquarium de 80 L, eau dopée renouvelée au jour 12	1 µg/L	2-3 cm/s	17°C	24j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,1215	Mazzella et al. 2007	Aquarium de 80 L, eau non renouvelée	1-2 µg/L	2-3 cm/s	17°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,286 (0,021)	Fauvelle et al. 2012	Aquarium de 80 L Dopage initial et à 10 jours pour les composés dont $c_{10} < 0,7 c_0$	0,8 – 3 µg/L	5-8 cm/s	19-23°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,287 (0,035)							Eau de rivière + 50 mg/L Nitrate		
	0,25 (0,08)	Belles et al.	Aquarium de 250 L, eau dopée en flux continu	0,1 µg/L	Non précisé	20°C	18j	Eau du		POCIS Pharm (45,8

Molécules	Rs (L/jour) (écart-type)	Référence	Type de calibration	Concentration	Agitation	Température	Durée calibration	Matrice	Salinité	Caractéristiques du POCIS
		2013						robinet		cm ² , 200 mg)
	0,1329	Ibrahim et al. 2013	Aquarium de 100 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	11,5 cm/s	21°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
DIA	0,176	Lissalde et al. 2011	Aquarium de 80 L, eau dopée renouvelée au jour 12	1 µg/L	2-3 cm/s	17°C	24j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,0636	Mazzella et al. 2007	Aquarium de 80 L, eau non renouvelée	1-2 µg/L	2-3 cm/s	17°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,323 (0,023)	Fauvelle et al. 2012	Aquarium de 80 L Dopage initial et à 10 jours pour les composés dont $c_{10} < 0,7 c_0$	0,8 – 3 µg/L	5-8 cm/s	19-23°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,336 (0,026)							Eau de rivière + 50 mg/L Nitrate		
	0,08 (0,03)	Belles et al. 2013	Aquarium de 250 L, eau dopée en flux continu	0,1 µg/L	Non précisé	20°C	18j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm ² , 200 mg)
	0,0679	Ibrahim et al. 2013	Aquarium de 100 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	11,5 cm/s	21°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
Diuron	0,045 (0,016)	Alvarez et al. 2004	Béchers de 1L, eau dopée renouvelée quotidiennement	5 µg/L	Agité	27°C	56j	Eau		POCIS Pest 18 cm ² , 100 mg
	0,005 (0,002)		Béchers de 1L, eau dopée renouvelée 2 fois par semaine		Aucune	23°C				
	0,199	Lissalde et al. 2011	Aquarium de 80 L, eau dopée renouvelée au jour 12	1 µg/L	2-3 cm/s	17°C	24j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,2473	Mazzella et al. 2007	Aquarium de 80 L, eau non renouvelée	1-2 µg/L	2-3 cm/s	17°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,086	Martínez Bueno et al. 2009	Béchers de 2 L, eau dopée renouvelée quotidiennement	0,5 µg/L	Agité	21°C	7j	Eau de mer artificielle		POCIS Pharm achetés chez Exposmeter
	0,198 (0,005)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm ² , 200 mg)
	0,208 (0,004)	Fauvelle et al. 2012	Aquarium de 80 L Dopage initial et à 10 jours pour les composés dont $c_{10} < 0,7 c_0$	0,8 – 3 µg/L	5-8 cm/s	19-23°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,212 (0,003)							Eau de rivière + 50 mg/L Nitrate		

Molécules	R _s (L/jour) (écart-type)	Référence	Type de calibration	Concentration	Agitation	Température	Durée calibration	Matrice	Salinité	Caractéristiques du POCIS
	0,33 (0,10)	Belles et al. 2013	Aquarium de 250 L, eau dopée en flux continu	0,1 µg/L	Non précisé	20°C	18j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
	0,2567	Ibrahim et al. 2013	Aquarium de 100 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	11,5 cm/s	21°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
Métolachlore	0,182	Lissalde et al. 2011	Aquarium de 80 L, eau dopée renouvelée au jour 12	1 µg/L	2-3 cm/s	17°C	24j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,305 (0,005)	Fauvelle et al. 2012	Aquarium de 80 L Dopage initial et à 10 jours pour les composés dont $c_{10} < 0,7 c_0$	0,8 – 3 µg/L	5-8 cm/s	19-23°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm
	0,271 (0,005)							Eau de rivière + 50 mg/L Nitrate		
	0,42 (0,16)	Belles et al. 2013	Aquarium de 250 L, eau dopée en flux continu	0,1 µg/L	Non précisé	20°C	18j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
	0,2682	Ibrahim et al. 2013	Aquarium de 100 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	11,5 cm/s	21°C	21j	Eau du robinet		POCIS Pharm

- Hormones**

Molécules	Rs (L/jour) (écart-type)	Référence	Type de calibration	Concentration	Agitation	Tempé- rature	Durée calibration	Matrice	Salinité	Caractéristiques du POCIS
17β-œstradiol	0,129	Matthiessen et al. 2006	Béchers de 1L, eau dopée avec E2 et 3H-E2	1 µg-1 mg/L	Agité	20°C	86h (3,6j)	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm achetés chez Exposmeter
	0,09					10°C	112h (4,7j)			
	0,580 (0,104)	Li et al. 2010a	Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée	2-10 µg/L	800-900 rpm	5°C	8j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm achetés chez EST (200 mg)
	0,596 (0,040)				800-900 rpm	15°C				
	0,693 (0,092)				800-900 rpm	25°C				
	0,334 (0,053)				60 rpm	25°C				
	0,037 (0,007)	Zhang et al. 2008	Aquarium de 30 L contaminé en flux continu	0,01-1 µg/L	Aucune	15°C	10j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm (5,72 cm², 100 mg)
	0,01									POCIS Membrane Polysulfone (5,72 cm², 100 mg)
	0,702 (0,143)	Li et al. 2011	Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 3	2-10 µg/L	Agitation modérée	25°C	8j	Eau du robinet déchlorée		POCIS Pharm achetés chez EST (41 cm², 200 mg)
	NA		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 7							
	NA		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 9							
	0,534 (0,019)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, DOM 3,33 mg/L							
	0,586 (0,032)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, DOM 3,86 mg/L							
	0,626 (0,015)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, DOM 4,92 mg/L							
	0,1144 (0,0150)	Arditsoglou et Voutsas 2008	Bécher de 1L, eau dopée renouvelée quotidiennement	0,5 µg/L	350 rpm	23,5°C	28j	Eau ultrapure	0 PSU	POCIS Pest achetés chez Exposmeter
	0,1145 (0,0139)									POCIS Pharm achetés chez Exposmeter
	0,221 (0,013)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
17α-œstradiol	0,1451 (0,0141)	Arditsoglou et Voutsas 2008	Bécher de 1L, eau dopée renouvelée quotidiennement	0,5 µg/L	350 rpm	23,5°C	28j	Eau ultrapure	0 PSU	POCIS Pest achetés chez Exposmeter
	0,1216 (0,0031)									POCIS Pharm achetés chez Exposmeter
	0,239 (0,014)	Morin et al.	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du		POCIS Pharm (45,8

Molécules	Rs (L/jour) (écart-type)	Référence	Type de calibration	Concentration	Agitation	Température	Durée calibration	Matrice	Salinité	Caractéristiques du POCIS
		2013						robinet		cm², 200 mg)
17α-ethinylœstradiol	0,747 (0,082)	Li et al. 2010a	Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée	2-10 µg/L	800-900 rpm	5°C	8j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm achetés chez EST (200 mg)
	0,751 (0,047)				800-900 rpm	15°C				
	0,853 (0,143)				800-900 rpm	25°C				
	0,379 (0,006)				60 rpm	25°C				
	0,051 (0,007)	Zhang et al. 2008	Aquarium de 30 L contaminé en flux continu	0,01-1 µg/L	Aucune	15°C	10j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm (5,72 cm², 100 mg)
	0,017									POCIS Membrane Polysulfone (5,72 cm², 100 mg)
	0,2137 (0,0456)	Arditsoglou et Voutsas 2008	Bécher de 1L, eau dopée renouvelée quotidiennement	0,5 µg/L	350 rpm	23,5°C	28j	Eau ultrapure	0 PSU	POCIS Pest achetés chez Exposmeter
	0,2217 (0,0525)									POCIS Pharm achetés chez Exposmeter
	0,260 (0,013)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
Mestranol	0,1068 (0,0089)	Arditsoglou et Voutsas 2008	Bécher de 1L, eau dopée renouvelée quotidiennement	0,5 µg/L	350 rpm	23,5°C	28j	Eau ultrapure	0 PSU	POCIS Pest achetés chez Exposmeter
	0,1064 (0,0074)									POCIS Pharm achetés chez Exposmeter
Oestrone	0,601 (0,022)	Li et al. 2010a	Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée	2-10 µg/L	800-900 rpm	5°C	8j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm achetés chez EST (200 mg)
	0,636 (0,068)				800-900 rpm	15°C				
	0,699 (0,087)				800-900 rpm	25°C				
	0,363 (0,065)				60 rpm	25°C				
	0,040 (0,012)	Zhang et al. 2008	Aquarium de 30 L contaminé en flux continu	0,01-1 µg/L	Aucune	15°C	10j	Eau distillée	0 PSU	POCIS Pharm (5,72 cm², 100 mg)
	0,004									POCIS Membrane Polysulfone (5,72 cm², 100 mg)
	0,793 (0,176)	Li et al. 2011	Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 3	2-10 µg/L	Agitation modérée	25°C	8j	Eau du robinet déchlorée		POCIS Pharm achetés chez EST (41 cm², 200 mg)
	NA		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 7							
	NA		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, pH 9							
	0,460 (0,023)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, MOD 3,33							

Molécules	Rs (L/jour) (écart-type)	Référence	Type de calibration	Concentration	Agitation	Température	Durée calibration	Matrice	Salinité	Caractéristiques du POCIS
			mg/L							
	0,583 (0,034)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, MOD 3,86 mg/L							
	0,599 (0,036)		Bouteille de 3 L, eau dopée non renouvelée, MOD 4,92 mg/L							
	0,1292 (0,0121)	Arditsoglou et Voutsas 2008	Bécher de 1L, eau dopée renouvelée quotidiennement	0,5 µg/L	350 rpm	23,5°C	28j	Eau ultrapure	0 PSU	POCIS Pest achetés chez Exposmeter
	0,1199 (0,0177)									POCIS Pharm achetés chez Exposmeter
	0,230 (0,012)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
Oestriol	0,1305 (0,0098)	Arditsoglou et Voutsas 2008	Bécher de 1L, eau dopée renouvelée quotidiennement	0,5 µg/L	350 rpm	23,5°C	28j	Eau ultrapure	0 PSU	POCIS Pest achetés chez Exposmeter
	0,1571 (0,0041)									POCIS Pharm achetés chez Exposmeter
Progestérone	0,346 (0,008)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)
Testostérone	0,280 (0,007)	Morin et al. 2013	Aquarium de 50 L, eau dopée en flux continu	1 µg/L	10 cm/s	20°C	28j	Eau du robinet		POCIS Pharm (45,8 cm², 200 mg)

Les taux d'échantillonnage de nombreux autres composés ou familles de composés (alkylphénols, drogues, plastifiants...) sont fournis dans l'article de revue de Morin et al. (2012).

Pour les *composés perfluorés*, très peu de données sont disponibles. Les seules données obtenues lors d'une calibration en laboratoire sont celles de Kaserzon et al. (2012). Ces auteurs ont modifié le POCIS conventionnel en remplaçant la phase adsorbante par une phase échangeuse d'ions, en augmentant sa quantité (600 mg) et en utilisant des membranes en PES avec des spécifications différentes (47 mm de diamètre et 0,45 μm de diamètre de pores). L'outil global est donc fondamentalement modifié, il n'est pas pertinent de faire figurer ici les taux d'échantillonnage qu'ils ont obtenus.

Il convient de remarquer que les différents auteurs publient des taux d'échantillonnage avec un nombre de chiffres significatifs variable. Il semble évident que, compte tenu de la multiplicité des étapes conduisant à l'obtention des taux d'échantillonnage (calibration, prélèvements, stockage, extraction, analyse, interprétation des résultats et calcul du R_s) et des incertitudes entachant chacune d'entre elles, il est illusoire de fournir un taux d'échantillonnage avec quatre chiffres après la virgule.

5.5 Influence des conditions environnementales

Lors d'une exposition de POCIS sur site, ce sont généralement des taux d'échantillonnage déterminés au laboratoire qui sont utilisés pour estimer des concentrations dissoutes. Or certains paramètres du milieu comme le débit, la température ou la matrice ne sont pas toujours semblables à ceux mis en œuvre au laboratoire pour déterminer les taux d'échantillonnage. La justesse de la détermination des concentrations dissoutes peut donc en être affectée.

Par conséquent il est crucial d'étudier la dépendance des taux d'échantillonnage avec les différents paramètres susceptibles de varier : hydrodynamisme, température, pH, matrice, formation de biofilm à la surface du POCIS... L'influence de certains paramètres comme l'agitation a été relativement étudiée dans la littérature (Alvarez et al. 2004; MacLeod et al. 2007; Charlestra et al. 2012; Bailly et al. 2013), alors que d'autres, qui peuvent être pourtant majeurs, comme la matrice ou le biofilm, ont été très peu documentés.

5.5.1 Influence des paramètres physiques

5.5.1.1 Influence de l'agitation

Alvarez et al. (2004) ont calibré des POCIS dans des béchers, en renouvelant l'eau dopée régulièrement. Un des béchers était agité (dispositif et vitesse de rotation non précisés dans la publication) et pas l'autre. Les résultats de ces calibrations sont présentés dans le Tableau 11.

Tableau 11 - Influence de l'agitation sur le taux d'échantillonnage (Alvarez et al. 2004)

Composé	Taux d'échantillonnage obtenus sans agitation L/jour	Taux d'échantillonnage obtenus avec agitation L/jour
Diuron	0,005 ± 0,002	0,045 ± 0,016
Isoproturon	0,015 ± 0,003	0,086 ± 0,008
Azithromycine	0,021 ± 0,006	0,120 ± 0,075
Fluoxétine	0,012 ± 0,007	0,086 ± 0,023
Lévothyroxine	0,009 ± 0,008	0,053 ± 0,028
Oméprazole	0,007 ± 0,004	0,030 ± 0,008

Les taux d'échantillonnage obtenus avec le bécher agité sont largement supérieurs à ceux obtenus sans agitation, il y a environ un facteur 5 entre les 2 séries de valeurs.

MacLeod et al. (2007) ont également testé l'influence de ce paramètre, obtenant les résultats présentés dans le tableau 12. Les taux d'échantillonnage sans agitation ont été comparés à ceux avec un flux à la surface du POCIS compris entre 3 et 12 cm/s. Les taux d'échantillonnage obtenus avec agitation sont systématiquement supérieurs à ceux obtenus sans agitation, confirmant les résultats précédents. Cette différence est significative (tests de Student avec $p < 0,05$) pour 13 composés sur les 33 pris en compte dans cette étude. Ces composés comportent un astérisque dans le tableau 12.

Tableau 12 - Influence de l'agitation sur le taux d'échantillonnage (MacLeod et al. 2007)

Composé	Taux d'échantillonnage obtenus sans agitation L/jour	Taux d'échantillonnage obtenus avec agitation L/jour
Acétaminophène	NA	NA
Aténolol	$0,037 \pm 0,064$	$0,040 \pm 0,070$
Caféine	NA	NA
Carbamazépine*	$0,112 \pm 0,023$	$0,348 \pm 0,116$
Célécoxib*	$0,169 \pm 0,093$	$0,669 \pm 0,142$
Clarithromycine*	$0,090 \pm 0,188$	$0,668 \pm 0,233$
Acide clofibrique	NA	NA
Codéine*	$0,090 \pm 0,067$	$0,329 \pm 0,133$
Diclofénac	$0,092 \pm 0,055$	$0,166 \pm 0,052$
Erythromycine*	$0,183 \pm 0,111$	$0,911 \pm 0,403$
Fénoprophène	$0,167 \pm 0,058$	$0,230 \pm 0,066$
Fluoxétine*	$0,223 \pm 0,130$	$1,37 \pm 0,35$
Gemfibrozil	$0,112 \pm 0,118$	$0,192 \pm 0,034$
Hydrochlorothiazide	$0,016 \pm 0,045$	$0,053 \pm 0,061$
Ibuprofène	NA	NA
Indométhacine	NA	NA
Kétoprophène	$0,083 \pm 0,078$	$0,135 \pm 0,035$
Metformine	NA	NA
Métoprolol*	$0,097 \pm 0,066$	$0,599 \pm 0,270$
Naproxène	$0,083 \pm 0,055$	$0,116 \pm 0,053$
Oméprazole*	NA	$2,46 \pm 0,61$
Paroxétine*	NA	$0,883 \pm 0,545$
Perindopril	NA	NA
Propranolol*	$0,147 \pm 0,129$	$0,980 \pm 0,345$
Roxithromycine	$0,134 \pm 0,138$	$0,723 \pm 0,430$
Sulfadiméthoxine	$0,021 \pm 0,071$	$0,091 \pm 0,042$
Sulfaméthazine	$0,049 \pm 0,040$	$0,114 \pm 0,029$
Sulfaméthoxazole	NA	NA
Sulfapyridine	$0,041 \pm 0,053$	$0,051 \pm 0,038$
Sulfisoxazole*	NA	$0,536 \pm 0,377$
Témazepam*	$0,128 \pm 0,062$	$0,421 \pm 0,101$
Triclosan*	$0,184 \pm 0,132$	$1,92 \pm 0,62$
Triméthoprim	$0,090 \pm 0,074$	$0,360 \pm 0,210$

Li et al. (2010a) ont également étudié l'influence de l'agitation sur le taux d'échantillonnage (Tableau 13). Les calibrations ont été menées dans des bouteilles ; l'eau était faiblement agitée (60 tours/min) dans certaines bouteilles, plus fortement (800-900 tours/min) dans d'autres.

Tableau 13 - Influence de l'agitation sur le taux d'échantillonnage (Li et al. 2010a)

Composé	Taux d'échantillonnage obtenus avec une faible agitation (60 tours/min) L/jour	Taux d'échantillonnage obtenus avec une forte agitation (800 tours/min) L/jour
Caféine	NA	0,127 ± 0,021
Carbamazépine	0,235 ± 0,046	0,561 ± 0,024
Triméthoprim	0,215 ± 0,003	0,436 ± 0,060
Acétaminophène	NA	0,145 ± 0,033
Naproxène	0,200 ± 0,037	0,392 ± 0,024
Ibuprofène	0,197 ± 0,013	0,348 ± 0,052
Gemfibrozil	0,222 ± 0,014	0,350 ± 0,012
Sulfapyridine	0,201 ± 0,008	0,462 ± 0,025
Sulfaméthoxazole	0,202 ± 0,019	0,339 ± 0,057
Aténolol	0,073 ± 0,013	0,094 ± 0,015
Propranolol	0,271 ± 0,066	0,917 ± 0,084
Nadolol	0,309 ± 0,002	0,447 ± 0,036
Sotalol	0,099 ± 0,012	0,151 ± 0,021
Métoprolol	0,156 ± 0,034	0,465 ± 0,039
Sertraline	0,471 ± 0,044	0,868 ± 0,054
Desméthyl sertraline	0,477 ± 0,039	0,962 ± 0,047
Venlafaxine	0,104 ± 0,039	0,521 ± 0,033
Citalopram	0,314 ± 0,086	0,758 ± 0,033
Fluoxétine	0,433 ± 0,058	0,974 ± 0,045
Paroxétine	0,605 ± 0,023	0,987 ± 0,082
Desméthyl citalopram	0,355 ± 0,035	0,707 ± 0,024
N-desméthyl venlafaxine	0,187 ± 0,001	0,408 ± 0,014
O-desméthyl venlafaxine	0,179 ± 0,082	0,396 ± 0,026
Bisphénol A	0,482 ± 0,066	0,835 ± 0,058
17 α -Ethinylœstradiol	0,379 ± 0,006	0,853 ± 0,143
17 β -œstradiol	0,334 ± 0,053	0,693 ± 0,092
œstrone	0,363 ± 0,065	0,699 ± 0,087
Triclosan	0,753 ± 0,081	1,929 ± 0,232
4-Nonylphénol	0,923 ± 0,155	2,459 ± 0,131

Les taux d'échantillonnage sont à nouveau plus élevés dans des conditions de forte agitation, quelle que soit la molécule.

Li et al. (2010b) ont étudié l'accumulation de composés pharmaceutiques en exposant des POCIS dans quatre canaux avec des débits différents d'eau usée traitée (de 2,6 à 37 cm/s). Leurs résultats, présentés dans le tableau 14, confirment que l'accumulation dans le POCIS est favorisée par un débit élevé.

Tableau 14 - Influence de l'agitation sur la quantité de composés accumulée dans les POCIS (ng/POCIS) (Li et al. 2010b)

Débit (cm/s)	Cotinine	Caféine	Carbamazépine	Triméthoprim	Acétaminophène	Naproxène	Ibuprofène	Gemfibrozil	Sulfa-pyridine	Sulfaméthoxazole
POCIS « Pharm »										
2,6	1,4	1,5	1440	532	9,4	746	337	18,0	100	160
5,5	1,6	0,9	1540	644	9,6	727	358	23,1	102	172
15	1,8	1,3	1590	704	13,3	750	382	26,6	99,5	183
37	1,7	1,1	2020	1830	14,2	879	432	30,6	124	213
POCIS « Pesticide »										
2,6	14,6	10,7	2300	1020	25,8	1340	799	20,0	423	1310
5,5	27,8	11,8	2410	1230	16,2	1860	912	19,6	549	1370
15	43,4	10,7	2920	1720	23,6	1970	911	25,8	602	2020
37	14,6	10,0	3180	1830	48,5	1850	1130	26,1	642	1460

Ces auteurs ont observé que l'effet du débit sur les quantités accumulées dans les POCIS n'augmentait pas de manière linéaire avec le débit. Les profils obtenus montrent qu'il semble y avoir une vitesse au-delà de laquelle les quantités accumulées ne varient plus. En effet, dans le cas d'une agitation élevée, c'est le transfert à travers la membrane qui devient cinétiquement limitant, et non plus la diffusion à travers la couche limite d'eau.

Bailly et al. (2013) ont montré qu'une augmentation de la vitesse à la surface des POCIS de 0,11 à 0,29 m/s entraînait une augmentation significative des taux d'échantillonnage (test de Student avec $p < 0,05$), et ce pour 5 composés pharmaceutiques (aténolol, prednisolone, méthylprednisolone, ofloxacine et kétoprofène) parmi les 6 testés. Quant au sulfaméthoxazole, une légère augmentation est mise en évidence mais non significative d'après le test statistique pratiqué par les auteurs.

Enfin, Charlestra et al. (2012) ont également observé une augmentation significative du taux d'échantillonnage pour des pesticides entre un milieu non agité et un milieu agité.

Le tableau 15 fait le bilan des différents résultats publiés sur l'influence de l'agitation sur les taux d'échantillonnage.

Tableau 15 - Synthèse des résultats obtenus dans la littérature sur l'influence de l'agitation sur le taux d'échantillonnage

Référence	Agitation minimale	Agitation maximale	Impact sur le taux d'échantillonnage	Composés étudiés
Alvarez et al. (2004)	Non agité	Agité	Augmentation x 4-9	Pesticides, composés pharmaceutiques
MacLeod et al. (2007)	Non agité	12 cm/s	Augmentation < x 7	Composés pharmaceutiques
Li et al. (2010a)	60 tr/min	900 tr/min	Augmentation < x 3	Composés pharmaceutiques, hormones, alkylphénols
Li et al. (2010b)	2,6 cm/s	37 cm/s	Augmentation < x 2	Composés pharmaceutiques
Charlestra et al. (2012)	Non agité	40 tr/min	Augmentation < x 3	Pesticides
Bailly et al. (2013)	11 cm/s	29 cm/s	Augmentation < x 2	Composés pharmaceutiques

Même s'il est difficile de comparer les conditions expérimentales d'un auteur à l'autre, les vitesses n'étant pas toutes exprimées de manière identique, tous les auteurs qui se sont intéressés à ce phénomène parviennent à la même conclusion : plus le milieu est agité, plus le taux d'échantillonnage est élevé. Ce phénomène a été expliqué par le fait que, dans ces conditions, l'étape limitant le transfert des analytes vers la phase réceptrice est la diffusion à travers la couche limite d'eau entourant le POCIS (Alvarez et al. 2004). Plus l'agitation est importante, plus la couche limite est fine et plus les composés diffusent de manière efficace vers la phase adsorbante, jusqu'à ce que ce soit le transfert à travers la membrane qui devienne limitant.

Il convient de remarquer que la gamme de variation des R_s est, dans de nombreux travaux (Li et al. 2010a; Li et al. 2010b; Charlestra et al. 2012; Bailly et al. 2013), relativement réduite (au maximum d'un facteur 2 à 3), malgré l'écart de vitesse appliqué qui est parfois d'un facteur 10.

5.5.1.2 Influence de la température

La température est un autre paramètre à prendre en compte. En effet, lors de campagnes saisonnières sur un même site par exemple, il peut y avoir des écarts de température importants entre les différentes campagnes de prélèvement, donc potentiellement des variations des taux d'échantillonnage.

Togola et Budzinski (2007) ont étudié ce paramètre en effectuant une calibration à 15°C et une autre à 21°C. Globalement, le taux d'échantillonnage augmente avec la température. Cette augmentation est particulièrement importante pour les composés suivants : amitryptiline, doxépine, imipramine, diazépam, kétoprofène, dont les taux d'échantillonnage sont quasiment multipliés par 2. Pour les autres composés en revanche (caféine, carbamazépine, gemfibrozil, naproxène) l'augmentation est très faible voire négligeable pour la carbamazépine.

Ces résultats sont confirmés par ceux de Li et al. (2010a), qui ont exposé des POCIS en triplicats à 5°C, 15°C et 25°C (Figure 16). Pour la plupart des composés, le taux d'échantillonnage augmente nettement avec la température, mais pour quelques uns (caféine, acétaminophen, sulfamethoxazole, sotalol, paroxétine, œstrogènes), l'influence de ce paramètre semble moins nette. L'augmentation du taux d'échantillonnage est inférieure à un facteur 2 entre les températures les plus extrêmes, mais reste statistiquement significative (test de Student, $p < 0,05$).

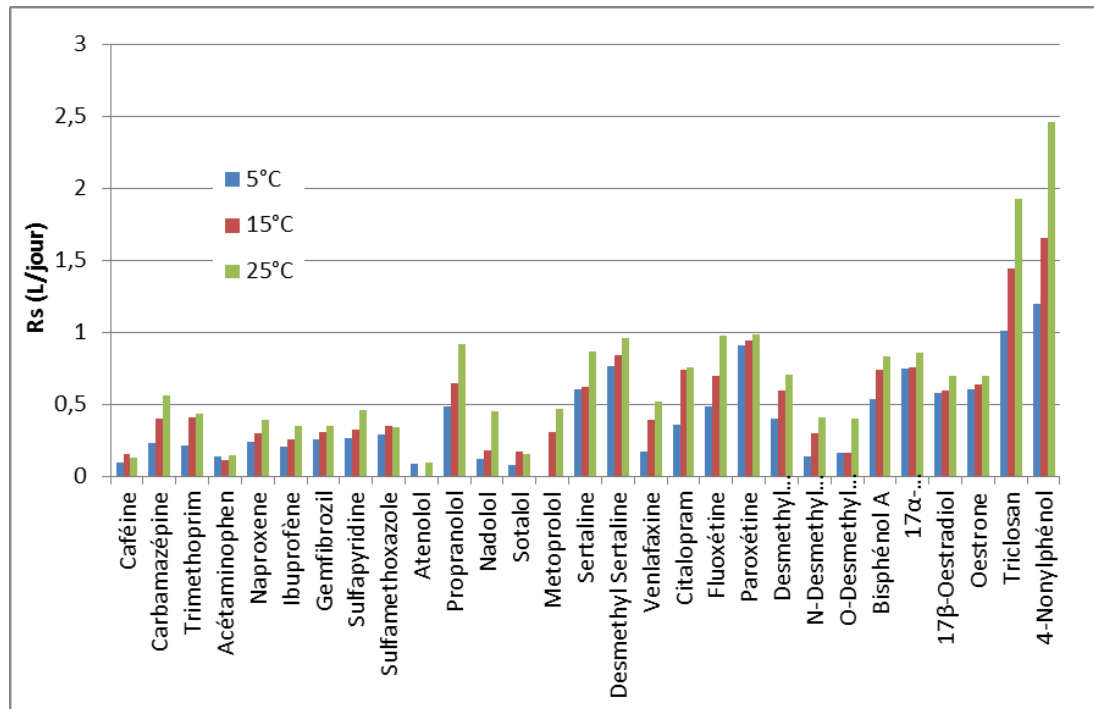


Figure 16 - Influence de la température sur le taux d'échantillonnage (Li et al. 2010a)

Bailly et al. (2013) ont testé trois températures différentes : 15°C, 20°C et 25°C. Ces auteurs ont également noté une augmentation du taux d'échantillonnage avec la température, mais sans que ce soit significatif entre 20°C et 25°C.

Que le transfert des analytes vers la phase réceptrice soit limité par la couche limite d'eau ou par la diffusion à travers la membrane, le taux d'échantillonnage peut être exprimé en fonction d'un coefficient de diffusion, soit à travers la couche limite d'eau (D_w), comme dans l'Equation 9, soit à travers la membrane (D_m), comme dans l'Equation 10 (Alvarez et al. 2007).

$$R_s = \frac{D_w}{\delta_w} A \quad \text{Contrôle par la couche limite d'eau} \quad \text{Equation 9}$$

$$R_s = \frac{D_m}{\delta_m} K_{mw} A \quad \text{Contrôle par la membrane} \quad \text{Equation 10}$$

Avec :

- D_w : coefficient de diffusion à travers la couche limite d'eau ($L.m^{-1}.j^{-1}$)
- δ_w : épaisseur de la couche limite statique d'eau (m)
- D_m : coefficient de diffusion à travers la membrane ($L.m^{-1}.j^{-1}$)
- δ_m : épaisseur de la membrane (m)
- K_{mw} : constante de partage membrane / eau (sans unité)
- A : aire exposée (m^2)
- R_s : taux d'échantillonnage ($L.j^{-1}$)

Dans les deux cas, ce sont des mécanismes de diffusion régis par la loi de Fick qui interviennent (Stephens et Müller 2007). Or, le coefficient de diffusion augmente avec la température suivant une loi de type Arrhénius. Pour une espèce i à une température T :

$$D_i(T) = D_{i_0} e^{-E/kT} \quad \text{Equation 11}$$

Avec : E : énergie d'activation (J)
 K : constante de Boltzmann (J.K⁻¹)
 T : température absolue (K)

La température a aussi un effet sur la constante de partage entre l'échantillonneur et l'eau (K_{sw}). En effet, comme l'adsorption est un processus exothermique, une augmentation de température provoque, d'après le principe de Le Chatelier, un déplacement de l'équilibre en faveur de l'espèce libre, i.e. une diminution du K_{sw} .

De la combinaison des deux effets, cinétique (impact sur le coefficient de diffusion) et thermodynamique (impact sur la constante de partage K_{sw}) résultera soit une augmentation soit une diminution de la quantité de composés accumulée par le POCIS.

5.5.1.3 Influence du biofouling

Lors d'une exposition prolongée dans un milieu aquatique, un voile biologique peut dans un premier temps se former sur les échantillonneurs, suivi ensuite de développements de biosalissures, ou biofouling (Gonzalez et al. 2012)

Un tel développement est susceptible de modifier le transfert des analytes vers la phase réceptrice car le biofilm constitue de manière intuitive une barrière supplémentaire au transfert de masse à travers la membrane (Flemming et al. 1997).

Très peu de travaux ont étudié l'impact de la formation d'un biofilm sur l'accumulation de composés dans un POCIS. Seuls Harman et al. (2009) ont étudié ce paramètre avec ce type d'échantillonneurs. Ils ont comparé les taux d'échantillonnage obtenus pour des alkylphénols avec des membranes neuves et avec des membranes biofoulées après immersion dans de l'eau durant 39 jours. Le rapport R_s (Membrane biofoulée) / R_s (Membrane neuve) est représenté sur la figure 17 en fonction du $\log(K_{ow})$ des composés.

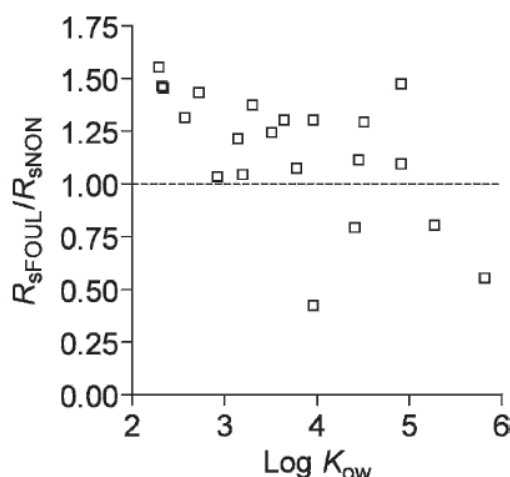


Figure 17 - Rapports entre les taux d'échantillonnage d'alkylphénols obtenus avec des membranes biofoulées et neuves (Harman et al. 2009)

Dans le cadre de cette étude, le biofouling des membranes semble accélérer le transfert des alkylphénols vers la phase adsorbante car le taux d'échantillonnage obtenu avec les membranes biofoulées est quasiment toujours supérieur à celui avec les membranes neuves. Les auteurs ont justifié ce phénomène par une potentielle réduction des interactions avec la membrane foulée. Il convient néanmoins de garder à l'esprit que les alkylphénols sont des composés relativement apolaires par rapport aux composés plus classiquement échantillonnés par le POCIS, et peuvent donc présenter un comportement particulier, potentiellement différent de celui de composés plus polaires. Ces résultats préliminaires demandent à être confirmés par des études complémentaires, d'autant plus que ce paramètre peut être potentiellement majeur lors d'une exposition sur site.

5.5.2 Influence des paramètres chimiques

5.5.2.1 Influence de la concentration en composés d'intérêt

Pour pouvoir appliquer le POCIS en milieu naturel, il est essentiel que le taux d'échantillonnage soit indépendant de la concentration en composés (Alvarez et al. 2007). Cela a été prouvé par plusieurs auteurs (Matthiessen et al. 2006; Togola et Budzinski 2007; Zhang et al. 2008; Arditoglou et Voutsas 2008).

A titre d'exemple, les résultats de Zhang et al. (2008) pour le bisphénol A, l'œstrone, le 17 β -œstradiol et l'éthinylœstradiol sont présentés dans le Tableau 16.

Tableau 16 - Influence de la concentration en composés sur le taux d'échantillonnage (Zhang et al. 2008)

Concentration (ng/L)	Taux d'échantillonnage (L/jour)			
	Bisphénol A	Œstrone	17 β -Œstradiol	17 α -Ethinylœstradiol
10	0,047	0,034	0,041	0,047
20	0,040	0,039	0,037	0,065
50	0,053	0,040	0,028	0,049

100	0,028	0,026	0,029	0,046
250	0,038	0,040	0,039	0,053
500	0,042	0,039	0,042	0,051
1000	0,033	0,064	0,045	0,046
Moyenne	0,040	0,040	0,037	0,051
Ecart-type	0,008	0,012	0,007	0,007
CV (%)	21,1	28,4	17,6	13,0

5.5.2.2 Influence du pH

Le pH du milieu est susceptible de varier d'un type d'eau à un autre et au cours du temps pour un même type d'eau. A titre d'exemple, Houhou et al. (2009) ont mesuré le pH de 30 échantillons d'eaux usées prélevés entre 2004 et 2006 et ont obtenu des pH compris entre 7,7 et 9,8.

Il est *a priori* surtout important de prendre en compte ce paramètre pour les composés ionisables à un pH proche de celui du milieu naturel i.e. avec un pKa de l'ordre de 7-8. En effet, le fait que la molécule soit chargée ou neutre peut notamment faire varier son affinité pour la membrane et pour la phase réceptrice. Le taux d'échantillonnage peut donc potentiellement en être affecté.

L'influence du pH de l'eau sur l'accumulation du bisphénol A, de l'œstrone, du 17 β -œstradiol et de l'éthinylœstradiol dans les POCIS a été évaluée par Zhang et al. (2008). Une gamme de pH comprise entre 4 et 10 a été considérée. Toutefois, les pKa des composés étudiés sont tous supérieurs à 10 donc dans cette gamme de pH, l'ionisation des composés varie très peu. Pour ces 4 composés, une modification du pH comprise entre 4 et 10 n'entraîne pas de variation du taux d'échantillonnage.

Li et al. (2011) ont testé trois pH (pH 3, 7, 9) avec une gamme de composés plus diverse en termes de pKa. Le tableau 17 regroupe leurs résultats :

Tableau 17 - Taux d'échantillonnage des POCIS à pH 3, 7, et 9 (Li et al. 2011)

Composé	pKa	R _s à pH 3 (L/jour)	R _s à pH 7 (L/jour)	R _s à pH 9 (L/jour)
N-desméthyl-venlafaxine	NA	0,166 \pm 0,003	0,237 \pm 0,058	0,452 \pm 0,048
Venlafaxine	9,4	0,071 \pm 0,020	0,287 \pm 0,053	0,372 \pm 0,085
Deméthyl citalopram	NA	0,377 \pm 0,008	0,362 \pm 0,028	0,471 \pm 0,059
Citalopram	9,59	0,120 \pm 0,006	0,445 \pm 0,041	0,561 \pm 0,091
Paroxétine	10,32	0,213 \pm 0,025	0,573 \pm 0,006	0,618 \pm 0,025
Fluoxétine	10,06	0,289 \pm 0,032	0,502 \pm 0,025	0,596 \pm 0,074
Desméthyl sertraline	NA	0,343 \pm 0,051	0,793 \pm 0,061	0,686 \pm 0,063
Sertraline	9,47	0,321 \pm 0,046	0,729 \pm 0,048	0,748 \pm 0,055
Nadolol	9,67	NA	0,074 \pm 0,018	0,275 \pm 0,034
Métoprolol	9,6	0,125 \pm 0,023	0,321 \pm 0,035	0,570 \pm 0,063
Propranolol	9,42	0,161 \pm 0,028	0,478 \pm 0,028	0,596 \pm 0,064
Carbamazépine	13,9	0,226 \pm 0,028	0,354 \pm 0,042	0,372 \pm 0,003
Triméthoprim	7,12	0,104 \pm 0,006	0,209 \pm 0,012	0,370 \pm 0,059
Sulfaméthoxazole	1,7 et 5,6	0,220 \pm 0,008	NA	NA
Naproxène	4,15	1,18 \pm 0,20	0,113 \pm 0,034	0,117 \pm 0,005
Ibuprofène	4,91	1,02 \pm 0,11	0,100 \pm 0,008	0,214 \pm 0,018
Gemfibrozil	4,42	0,910 \pm 0,020	0,344 \pm 0,022	0,335 \pm 0,058
Bisphénol A	10,3	0,607 \pm 0,011	0,634 \pm 0,020	0,651 \pm 0,050

Œstrone	10,77	0,793 ± 0,176	NA	NA
17β-Œstradiol	10,71	0,702 ± 0,143	NA	NA
Triclosan	8,1	1,06 ± 0,08	1,34 ± 0,01	1,01 ± 0,07

Les taux d'échantillonnage des composés ayant un pKa élevé (bisphénol A par exemple) ne sont quasiment pas impactés par le changement de pH : les trois valeurs de pH testées sont inférieures à la valeur du pKa du composé. Ainsi, la molécule est sous la même forme quelles que soient les conditions expérimentales. En revanche, pour les composés acides (ibuprofène, gemfibrozil...), le taux d'échantillonnage diminue lorsque le pH augmente. Par exemple, le taux d'échantillonnage du gemfibrozil est autour de 0,9 L/jour à pH 3 lorsque la molécule est sous forme -COOH, alors qu'il passe à 0,3 L/jour à partir de pH 7 i.e lorsque la molécule est déprotonée, sous forme -COO⁻. Pour les composés basiques (bêta-bloquants...), c'est la tendance inverse qui est constatée : c'est lorsque le pH diminue que les taux d'échantillonnage diminuent. Ces résultats suggèrent que l'accumulation dans les POCIS est plus importante lorsque les molécules sont sous forme neutre. Ce résultat peut se justifier par le caractère hydrophile qui est plus marqué pour une molécule ionisée que pour la même molécule sous forme neutre, ce qui se traduit par une affinité de la molécule ionisée pour le POCIS moins importante.

Toutefois, les variations de pH envisagées ici sont extrêmes, dans le cas d'un déploiement en milieu naturel le pH va être proche de la neutralité. Il serait pertinent de compléter ces essais par des tests dans une gamme de pH plus resserrée.

5.5.2.3 Influence de la salinité

La salinité d'une eau, mesurée en PSU (Practical Salinity Units) peut varier de manière importante suivant le point de prélèvement. Il est donc essentiel de maîtriser ce paramètre en milieu marin ou estuarien par exemple. La salinité d'une eau naturelle est généralement comprise entre 0 (eau douce) et environ 35 PSU (eau de mer). Togola et Budzinski (2007) ont étudié l'influence de la salinité du milieu sur le taux d'échantillonnage. Leurs résultats sont présentés sur la figure 18 :

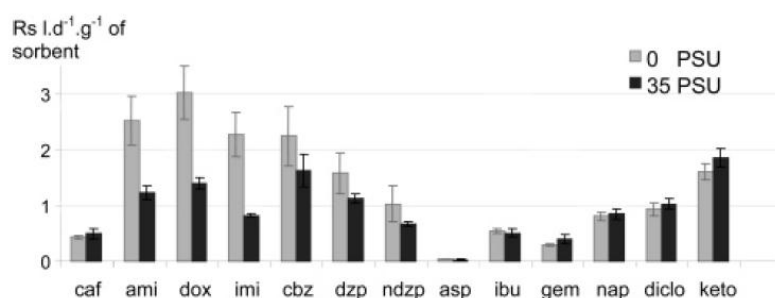


Figure 18 - Effet de la salinité sur le taux d'échantillonnage de composés pharmaceutiques (Togola et Budzinski 2007)

La salinité n'a quasiment pas d'effet sur le taux d'échantillonnage des composés acides (ibuprofène, gemfibrozil, naproxène, diclofénac, kétoprofène). En revanche, les taux d'échantillonnage des composés basiques diminuent lorsque la salinité augmente. L'effet de la salinité semble donc dépendant du composé considéré et de ses propriétés physico-chimiques. Plusieurs hypothèses ont été émises par les auteurs concernant ces résultats, comme par exemple l'augmentation de la force ionique de l'eau à 35 PSU qui provoquerait une diminution de l'hydrophilie des composés plus marquée pour

les composés apolaires. Quoi qu'il en soit, le manque de données à ce sujet a été souligné par les auteurs, notamment dans une perspective d'application du POCIS en milieu estuarien.

Zhang et al. (2008) ont fait le même type de travaux sur le bisphénol A, l'œstrone, le 17 β -œstradiol et l'éthinylœstradiol. Leurs résultats montrent que le taux d'échantillonnage ne varie pas avec la salinité pour les composés choisis. Or ces quatre composés sont basiques (pKa d'environ 10), les résultats de ces auteurs semblent donc en contradiction avec ceux de Togola et Budzinski (2007). Toutefois, il faut noter que les taux d'échantillonnage déterminés par Zhang et al. (2008) sont très faibles car obtenus sans agitation. De plus, leurs taux d'échantillonnage ont été déterminés après 3 jours d'exposition seulement. Cela rend donc difficile la discrimination entre les différentes conditions expérimentales.

5.5.2.4 Influence de la concentration en matière organique

Li et al. (2011) se sont intéressés à ce paramètre : des calibrations ont été menées à 25°C dans des bouteilles de 3 litres. L'eau utilisée est une eau naturelle supplémentée avec différentes quantités de matière organique naturelle achetée auprès de l'International Humic Substance Society. Cette matière organique a été isolée par osmose inverse à partir d'une eau de lac et contient à la fois des substances humiques et fulviques. Leurs résultats, présentés dans le tableau 18, semblent refléter une tendance à l'augmentation du taux d'échantillonnage avec la concentration en carbone organique dissous (COD). Toutefois, les auteurs nuancent ceci en précisant que la gamme de concentration étudiée est peu étendue, avec une concentration en COD comprise entre 3 et 5 mg/L, et que les différences entre les taux d'échantillonnage ne sont pas statistiquement significatives (test d'analyse de variance ou ANOVA).

Tableau 18 - Effet de la teneur en MOD sur les taux d'échantillonnage de composés pharmaceutiques (Li et al. 2011)

Composé	R _s avec 3,33 mg/L de COD (L/jour)	R _s avec 3,86 mg/L de COD (L/jour)	R _s avec 4,92 mg/L de COD (L/jour)
N-desméthyl-venlafaxine	0,262 ± 0,056	0,277 ± 0,027	0,460 ± 0,028
Venlafaxine	0,377 ± 0,067	0,340 ± 0,003	0,442 ± 0,009
Deméthyl citalopram	0,452 ± 0,055	0,516 ± 0,011	0,595 ± 0,017
Citalopram	0,586 ± 0,059	0,548 ± 0,046	0,636 ± 0,034
Paroxétine	0,718 ± 0,101	0,615 ± 0,017	0,578 ± 0,039
Fluoxétine	0,553 ± 0,079	0,664 ± 0,025	0,658 ± 0,013
Desméthyl sertraline	0,683 ± 0,056	0,578 ± 0,009	0,666 ± 0,001
Sertraline	0,604 ± 0,046	0,618 ± 0,018	0,702 ± 0,059
Nadolol	0,082 ± 0,030	0,176 ± 0,041	0,277 ± 0,006
Métoprolol	0,323 ± 0,024	0,380 ± 0,012	0,406 ± 0,027
Propranolol	0,506 ± 0,063	0,588 ± 0,019	0,536 ± 0,024
Carbamazépine	0,360 ± 0,037	0,417 ± 0,075	0,404 ± 0,012
Triméthoprim	0,260 ± 0,036	0,305 ± 0,062	0,393 ± 0,036
Sulfaméthoxazole	0,156 ± 0,001	0,186 ± 0,006	0,303 ± 0,010
Naproxène	0,363 ± 0,022	0,348 ± 0,032	0,337 ± 0,014
Ibuprofène	0,360 ± 0,041	0,413 ± 0,028	0,438 ± 0,020
Gemfibrozil	0,412 ± 0,058	0,502 ± 0,026	0,473 ± 0,009
Bisphénol A	0,620 ± 0,024	0,668 ± 0,029	0,709 ± 0,012
Œstrone	0,460 ± 0,023	0,583 ± 0,034	0,599 ± 0,036
17β-Œstradiol	0,534 ± 0,019	0,586 ± 0,032	0,626 ± 0,015
Triclosan	1,29 ± 0,05	1,27 ± 0,02	1,29 ± 0,01

Charlestra et al. (2012) ont conduit des essais relativement proches. Ils ont testé trois eaux différentes : de l'eau de rivière brute (teneur en carbone organique total : 5,1 mg/L), de l'eau de rivière filtrée à 0,45 µm (teneur en carbone organique dissous : 4,5 mg/L) et de l'eau de rivière synthétique. Cette dernière eau a été produite à partir d'eau déionisée, dont le pH a été tamponné avec NaHCO₃ et la force ionique ajustée avec NaCl et CaCl₂, 2H₂O. De cette façon, l'eau de rivière synthétique ne contient pas de matière organique.

Les pesticides étudiés sont moyennement polaires : leur log K_{ow} est autour de 3, sauf l'hexazinone qui a un log K_{ow} de 1,72. Les auteurs s'attendaient donc à ce que des phénomènes d'association avec la matière organique se produisent, avec pour conséquence une modification du transfert des pesticides vers la phase réceptrice du POCIS.

Des béchers ont été remplis avec les trois types d'eaux ainsi qu'une solution de dopage contenant les pesticides, puis un POCIS a été immergé dans chaque bécher. L'eau dopée a été renouvelée quotidiennement. Les taux d'échantillonnage obtenus dans les trois conditions expérimentales ne sont pas significativement différents (ANOVA). Par conséquent, la quantité de matière organique dans l'eau, qu'elle soit dissoute ou particulaire, ne semble pas affecter le taux d'échantillonnage. Ces résultats confirment ceux de Li et al. (2011), toutefois des études complémentaires, avec une gamme de concentrations en matière organique plus large et d'autres familles de composés, seraient nécessaires pour en augmenter le niveau de certitude.

5.5.2.5 Influence de la matrice

Li et al. (2011) ont comparé les taux d'échantillonnage obtenus avec 3 types d'eaux différents : de l'eau déionisée, de l'eau naturelle et de l'eau du robinet déchlorée par bullage d'air (Figure 19). Les caractéristiques des trois eaux sont présentées dans le tableau 19 :

Tableau 19 - Caractéristiques physico-chimiques (concentrations en mg/L) des trois eaux utilisées (Li et al. 2011)

	pH	Alcalinité	Nitrates	COD	Carbone inorganique	Carbone total
Eau déionisée	5,43	2	0,02	0,1-0,3	< 0,4	< 1
Eau naturelle	6,13	32	0,32	3,33	0,40	3,73
Eau du robinet déchlorée	8,46	74	0,72	4,55	16,54	21,09

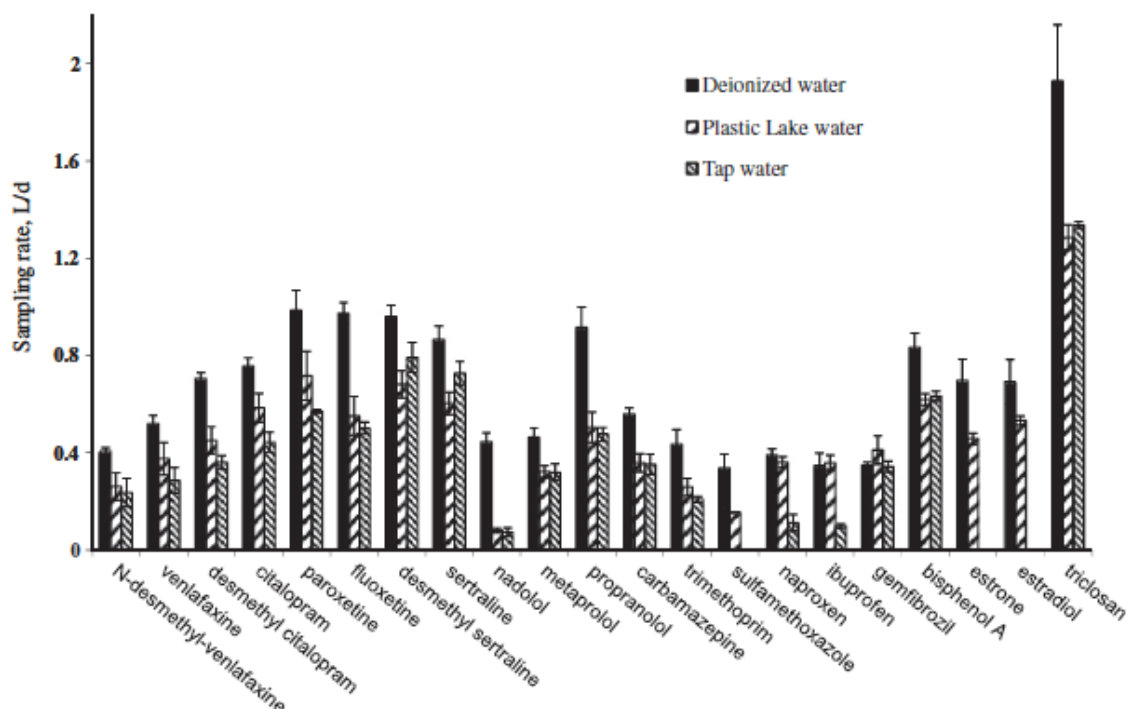


Figure 19 - Taux d'échantillonnage déterminés avec trois eaux différentes (Li et al. 2011)

Les taux d'échantillonnage les plus élevés sont obtenus avec l'eau déionisée. Pour la plupart des composés, l'eau du robinet déchlorée et l'eau naturelle fournissent des taux d'échantillonnage proches.

L'interprétation de ces résultats est complexe car de multiples paramètres (pH, teneur en nitrates, teneur en COD et COT, ...) diffèrent entre les 3 types d'eaux.

Jacquet et al. (2012) ont également comparé les taux d'échantillonnage de divers bêtabloquants déterminés *in-situ* dans différentes matrices : en amont de STEP, en aval et dans l'effluent. Le tableau 20 expose les caractéristiques des sites retenus.

Tableau 20 - Caractéristiques des sites étudiés (Jacquet et al. 2012)

	Caractéristiques de la rivière				Caractéristiques de la STEP	
	Température (°C)	pH	Conductivité (µS/cm)	Débit (m³/s)	Débit (m³/s)	Capacité (équivalents-habitants)
Saône	9,0	8,0	483	524	0,08	45 000
Ardières	15,3	7,8	121	0,67	0,009	2 900
Bourbre	15,0	8,0	649	3,29	0,20	78 000

A titre d'exemple, les résultats pour l'aténolol, le sotalol, le métoprolol et l'acébutolol obtenus en amont (Up), en aval (DO) et dans l'effluent (Ef), sont présentés dans le tableau 21.

Tableau 21 - Taux d'échantillonnage de bêtabloquants déterminés *in-situ* dans différentes matrices (Jacquet et al. 2012)

	Aténolol			Sotalol			Métoprolol			Acébutolol		
	Up	Ef	DO	Up	Ef	DO	Up	Ef	DO	Up	Ef	DO
Taux d'échantillonnage dans chaque matrice et sur chaque site (L/jour)												
Saône	0,12	0,08	0,23	0,14	0,17	0,23	0,27	0,38	0,58	0,20	0,33	0,23
Ardières	0,01	0,07	0,11	0,04	0,08	0,11	0,12	0,19	0,26	0,25	0,20	0,09
Bourbre	0,05	0,02	0,08	0,11	0,03	0,09	0,27	0,10	0,27	0,21	0,11	0,25
Taux d'échantillonnage moyen par matrice (L/jour)												
Moyenne	0,06	0,06	0,14	0,10	0,09	0,14	0,22	0,23	0,37	0,22	0,21	0,19
CV (%)	70	45	47	42	63	44	33	51	41	11	41	38
Taux d'échantillonnage moyen (L/jour)												
Moyenne	0,09			0,11			0,27			0,21		
CV (%)	71			54			50			33		

A l'exception de l'acébutolol, les taux d'échantillonnage déterminés en aval (DO) sont plus élevés que ceux déterminés en amont (Up) ou dans l'effluent (Ef). Les auteurs n'ont pas avancé d'explication à ce sujet.

Ces résultats mettent également en évidence une variabilité parfois importante d'un site à l'autre. Il y a par exemple un facteur 10 entre le taux d'échantillonnage de l'aténolol déterminé dans la Saône et dans l'Ardières en amont de la STEP. Cette variabilité provient du choix délibéré qu'ont fait les auteurs de se placer dans des conditions environnementales très différentes d'une campagne à l'autre (débit, température, concentration en matière organique...).

Comme de multiples paramètres entrent en jeu, il semble donc difficile de dégager des conclusions claires quant à un éventuel impact de la matrice sur les taux d'échantillonnage.

Fauvelle et al. (2012) ont réalisé une calibration de POCIS, à la fois dans de l'eau du robinet et dans de l'eau de rivière supplémentée en nitrates (50 mg/L). Les deux séries de taux d'échantillonnage obtenus sont très proches. Dans ce cas, l'influence de la matrice n'est pas majeure.

Bailly et al. (2013) ont déterminé des taux d'échantillonnage au laboratoire à la fois dans l'eau du robinet et dans de l'eau usée brute issue d'un hôpital. Les POCIS ont été exposés dans les deux milieux durant 12 jours, à 25°C et soumis à une agitation de 0,16 m/s. L'eau du robinet dopée ainsi que l'eau usée dopée ont été renouvelées tous les deux jours suite à des études préliminaires de stabilité. Les taux d'échantillonnage déterminés dans ces conditions figurent dans le tableau 22.

Tableau 22 - Taux d'échantillonnage déterminés dans l'eau du robinet et dans l'eau usée (Bailly et al. 2013)

Composé	Rs déterminé dans l'eau du robinet L/jour	Rs déterminé dans l'eau usée traitée L/jour
Ofloxacin	0,187 ± 0,018	0,105 ± 0,005
Aténolol	0,101 ± 0,009	0,092 ± 0,011
Sulfaméthoxazole	0,094 ± 0,011	0,080 ± 0,005
Prednisolone	0,195 ± 0,017	0,120 ± 0,004
Méthylprednisolone	0,173 ± 0,007	0,114 ± 0,003
Kétoprofène	0,206 ± 0,001	0,149 ± 0,006

Les taux d'échantillonnage obtenus par ces auteurs dans l'eau usée sont légèrement plus faibles que dans l'eau du robinet (10 à 40%). Cette différence est significative ($p < 0,05$ pour le test de Student) pour 4 composés sur les 6 étudiés (ofloxacin, prednisolone, méthylprednisolone, kétoprofène). La durée du régime linéaire est également raccourcie dans l'eau usée par rapport à l'eau du robinet. Les auteurs justifient cela par des mécanismes de compétition entre les analytes et la matière organique présente dans l'eau usée.

En conclusion, au vu du faible nombre d'études publiées et de leurs résultats qui ne sont pas toujours directement interprétables, il apparaît nécessaire de mener des études complémentaires sur ce paramètre.

5.6 Relation entre taux d'échantillonnage et propriétés physico-chimiques

Plusieurs auteurs ont tenté d'établir un lien entre les propriétés physico-chimiques de molécules, principalement leur $\log K_{ow}$, et les taux d'échantillonnage associés. Ainsi il serait possible, connaissant les propriétés physico-chimiques d'une molécule, d'estimer son taux d'échantillonnage sans effectuer de calibration en laboratoire.

5.6.1 Corrélation entre taux d'échantillonnage et $\log K_{ow}$

Togola et Budzinski (2007) ont établi une relation linéaire ($R^2 = 0,69$) entre les taux d'échantillonnage de composés pharmaceutiques et leurs $\log K_{ow}$ (-0,07 à 4,80). Li et al. (2010a) ont également observé une corrélation linéaire ($R^2 = 0,84$) pour certaines familles de composés.

MacLeod et al. (2007) ont quant à eux indiqué que leurs taux d'échantillonnage suivaient un modèle gaussien, avec un maximum pour un $\log K_{ow}$ de 3 ou 4.

Les taux d'échantillonnage obtenus par Mazzella et al. (2010) semblent suivre un modèle curvilinéaire pour des $\log K_{ow}$ compris entre 1,15 et 3,13, avec un maximum pour un $\log K_{ow}$ d'environ 3.

En revanche, Arditoglou et Voutsas (2008) n'ont pas réussi à dégager de corrélation entre le taux d'échantillonnage et le $\log K_{ow}$ des molécules considérées (alkylphénols et hormones).

5.6.2 Corrélation entre taux d'échantillonnage et $\log D$

Morin et al. (2013) ont cherché à relier le taux d'échantillonnage au $\log D$. Ce dernier paramètre englobe à la fois le $\log K_{ow}$ et la charge potentielle du composé via le pKa. Une corrélation quadratique a été observée par ces auteurs pour certaines familles de composés (bétabloquants, herbicides et hormones).

5.6.3 Corrélation entre taux d'échantillonnage et temps de rétention

Li et al. (2010a) ont tenté de corréler le taux d'échantillonnage avec le temps de rétention chromatographique sur une colonne de type C_{18} . Pour certaines classes de composés aux propriétés physico-chimiques proches, ils ont observé une augmentation du taux d'échantillonnage avec le temps de rétention.

Pour conclure, il paraît difficile en l'état actuel des connaissances d'estimer, à partir des propriétés physico-chimiques d'une molécule, son taux d'échantillonnage (Morin et al. 2012). Quelques corrélations ont été établies dans la littérature mais elles ne concernent que certaines familles de molécules, avec des propriétés relativement proches. De plus, il est probable que plusieurs caractéristiques d'une molécule soient impliquées : le $\log K_{ow}$ joue probablement un rôle, mais aussi potentiellement le pKa, la masse molaire,...

5.7 Influence des caractéristiques du POCIS

5.7.1 Comparaison entre les configurations « Pharm » et « Pest »

Deux configurations commerciales du POCIS existent (Seethapathy et al. 2008):

- La configuration « Pest » est un mélange de 3 adsorbants : Isolute ENV+ / Ambersorb 1500 carbon (80/20) dispersé sur S-X3 Bio Beads. C'est la configuration « historique » développée par Alvarez durant ses travaux de thèse (Alvarez, 1999).
- La configuration « Pharm » qui contient uniquement de la phase Oasis HLB.

Plusieurs auteurs ont comparé l'accumulation de différents composés avec ces deux configurations.

Arditsoglou et Voutsas (2008) ont calibré les deux types de POCIS en laboratoire avec des hormones et des alkylphénols et ont comparé les taux d'échantillonnage associés aux deux configurations. Les taux d'échantillonnage obtenus sont du même ordre de grandeur pour les deux configurations. Cette comparaison a été poursuivie sur 4 sites différents (rivière, estuaire, port et sortie de STEP). L'accumulation des alkylphénols ne semble pas avoir lieu de manière équivalente lorsque les deux configurations de POCIS sont exposées en sortie de STEP. Les auteurs justifient cela par la différence de comportement en conditions réelles entre les deux configurations, malgré un comportement proche en laboratoire. De fait, l'effet des paramètres environnementaux sur les taux d'échantillonnage des deux types de POCIS peut potentiellement être différent sur les deux configurations, et ainsi modifier l'accumulation dans une configuration de POCIS davantage que dans l'autre.

Li et al. (2010b) ont comparé l'accumulation d'une vaste gamme de composés pharmaceutiques avec les deux configurations. Les POCIS étaient immergés dans un effluent de STEP pendant 21 jours. Une quantité de 2 à 10 fois supérieure a été accumulée avec la configuration « Pest » pour de nombreux composés (cotinine, caféine, carbamazépine, triméthoprim, acétaminophène, ibuprofène, naproxène...). Pour l'aténolol, c'est une quantité 30 à 40 fois plus importante qui a été séquestrée dans les POCIS « Pest ». En revanche, pour certains composés (gemfibrozil, sertraline, citalopram, fluoxétine, paroxétine, propranolol), une quantité équivalente est échantillonnée avec les deux configurations. Il semblerait donc que les composés plutôt polaires soient mieux retenus sur la configuration « Pest ».

Le même type d'essai a été mené par Vermeirssen et al. (2005) en ciblant les œstrogènes. Globalement les deux types d'échantillonneurs ont fourni une œstrogénicité comparable, exprimée en EEQ (équivalents 17 β -œstradiol).

Mazzella et al. (2007) ont effectué des expériences de calibrations et ont comparé les facteurs de concentration (C_s/C_w) obtenus après 5 jours d'exposition. Leurs résultats montrent que la configuration « Pharm » peut conduire à des facteurs de concentrations plus importants que la configuration « Pest » pour les herbicides polaires ciblés.

Fedorova et al. (2013) ont réalisé une calibration *in-situ* dans un effluent de STEP en ciblant les composés perfluorés. Les deux types de POCIS permettent d'échantillonner dix composés perfluorés, alors que seuls cinq ont pu être analysés dans les échantillons d'eau issus de prélèvements moyennés 24h. À l'issue de leurs essais, ces auteurs concluent que la configuration « Pest » pourrait être plus adaptée à l'échantillonnage des composés perfluorés. En effet, la durée pendant laquelle l'accumulation se fait de manière linéaire est légèrement plus importante pour cette configuration. Toutefois, les taux d'échantillonnage (donc les quantités accumulées dans les POCIS après une période donnée) sont supérieurs pour la configuration « Pharm ».

Aucune tendance globale ne semble se dégager de tous ces travaux. Les deux configurations permettent d'échantillonner de manière satisfaisante les composés organiques. Néanmoins, l'élution de certains composés peut s'avérer difficile dans le cas de la phase « Pest », ce qui peut se traduire par des taux de récupération faibles. Ce phénomène a notamment été rapporté par Alvarez et al. (2007), Mazzella et al. (2007) et Li et al. (2010b). Il a été justifié par Alvarez et al. (2007) par la forte rétention des composés ayant des groupes fonctionnels très divers comme les composés pharmaceutiques par le substrat carboné (Amborsorb 1500 carbon) présent dans la phase « Pest ».

Par ailleurs, la phase Oasis HLB est généralement élue à l'aide de méthanol, qui est moins toxique que le toluène ou encore le dichlorométhane, mis en œuvre lors de l'élution de la phase « Pest » (Alvarez et al. 2004).

En outre, Li et al. (2010b) font état d'une fragilité plus importante des membranes dans la configuration « Pest » lors de la congélation, due à une importante accumulation d'eau dans ce type de phase réceptrice.

Enfin, d'un point de vue pratique, lorsque les POCIS ne sont pas achetés dans le commerce, le montage des POCIS avec une seule phase est plus aisé et permet d'éviter les éventuels problèmes d'homogénéité présentés par le mélange triphasique. Ces raisons justifient l'intérêt croissant porté à la configuration « Pharm ».

5.7.2 Autres modifications de la phase adsorbante

De par son design très modulable, il est possible de faire évoluer facilement les caractéristiques du POCIS. Certains auteurs ont choisi d'utiliser d'autres adsorbants, répondant ainsi à un besoin spécifique. Le plus souvent, il s'agit de phase échangeuse d'ions afin d'échantillonner des composés organiques ioniques.

Li et al. (2011) ont par exemple remplacé la phase HLB par de la phase Oasis-MCX (phase échangeuse de cations) et de la phase Oasis-MAX (phase échangeuse d'anions). Ils ont observé l'effet du changement de phase sur le taux d'échantillonnage de plusieurs produits pharmaceutiques et hormones. Pour la majorité des composés, le changement de phase n'apporte pas d'amélioration significative du taux d'échantillonnage à pH 7. Les auteurs écartent donc tout bénéfice apporté par les phases échangeuses d'ions pour les composés qui ont été ciblés.

Fauvelle et al. (2012) ont remplacé la phase Oasis HLB par de la phase Oasis MAX afin de réussir à retenir des herbicides ioniques comme par exemple le métolachlor OA (oxanilic acid) et ESA (ethansulfonic acid), ou le 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique).

Kaserzon et al. (2012 et 2013) ont utilisé de la phase Strata XAW qui est une phase échangeuse d'anions faible. L'emploi de cet adsorbant leur a permis d'échantillonner des composés perfluorés, qui sont sous forme anionique au pH environnemental.

5.7.3 Surface exposée

Le taux d'échantillonnage d'un POCIS est directement proportionnel à la surface exposée (Booij et al. 2007). Il est donc possible, en augmentant ou en réduisant la surface exposée, de modifier la cinétique d'accumulation des composés dans l'échantillonneur.

Zhang et al. (2008) ont calibré des POCIS comportant 100 mg de phase HLB, avec des surfaces exposées croissantes : 5,7 – 11,3 et 22,9 cm². A titre de comparaison, un POCIS « classique » contient 200 mg de phase réceptrice et a une surface exposée d'environ 45 cm². Leurs résultats pour le bisphénol A, l'œstrone, le 17 β -œstradiol et l'éthinylœstradiol sont présentés sur la figure 20.

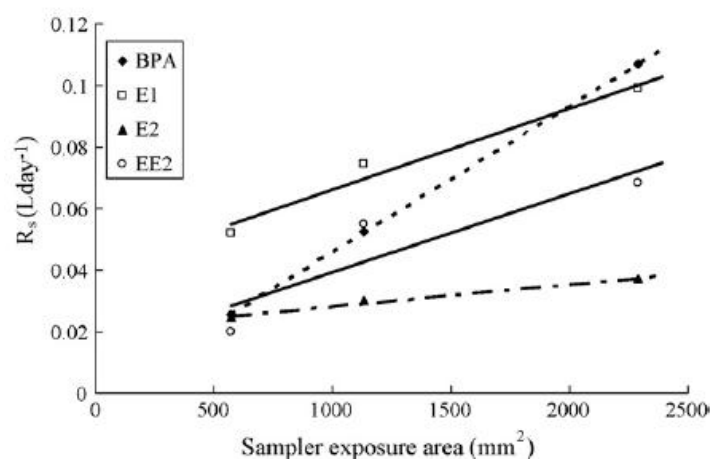


Figure 20 - Lien entre taux d'échantillonnage et surface exposée (Zhang et al. 2008)

Conformément à la théorie (Equation 9, Equation 10), les taux d'échantillonnage augmentent de manière proportionnelle avec la surface exposée pour les quatre composés testés. L'augmentation semble par contre légèrement différente suivant les composés. Les auteurs n'ont pas fourni de justification à ce sujet.

Cette caractéristique du POCIS a également été évaluée par Vincent Fauvelle lors de ses travaux de thèse (Fauvelle, 2012), conjointement avec Angel Belles (Belles, 2012). Il peut être intéressant de diminuer le rapport surface membranaire sur masse de phase afin de retarder le temps d'atteinte du demi-équilibre ($t_{1/2}$), car, pour une masse de phase fixée, ce paramètre cinétique est inversement proportionnel à la surface exposée (Alvarez et al. 2007). Ceci permet par exemple d'échantillonner de manière linéaire pendant une durée plus importante les molécules très polaires, qui sont accumulées de manière curvilinéaire avec un design classique. Des POCIS comportant une surface exposée de 3,14 cm² (contre environ 45 cm² pour le POCIS standard) ont été calibrés en laboratoire. Cette configuration a permis d'échantillonner de manière linéaire pendant 35 jours des pesticides très polaires voire anioniques à un pH environnemental comme le 2,4-D ou l'acétochlor ESA (acide éthanesulfonique). Néanmoins, cela s'accompagne d'une diminution importante (facteur 10 voire davantage) du taux d'échantillonnage i.e. de la sensibilité de l'outil. Cet outil modifié, baptisé μ POCIS par l'auteur, pourrait donc être utilisé dans des cas précis où les concentrations sont importantes et la sensibilité non limitante.

5.7.4 Nature de la membrane

Outre la surface exposée, il est possible de modifier la nature chimique de la membrane en utilisant d'autres polymères que le PES.

Alvarez et al. (2004) ont testé différents types de membranes : le PEBD, le PVDF, la cellulose, un copolymère acrylique, le Nylon, le PP et le PES. Les POCIS ont été assemblés avec ces différentes membranes et de la phase « Pest ». Les échantillonneurs ont été placés dans des récipients remplis d'eau dopée avec les composés suivis : éthinyloestradiol, atrazine et diazinon. Parmi tous ces types de membranes, le PES présentait le meilleur compromis en termes d'accumulation d'analytes, de résistance mécanique et de résistance au biofouling.

Zhang et al. (2008) ont remplacé la membrane en PES (pores de 0,1 μm de diamètre) par une membrane en polysulfone (pores de 0,2 μm de diamètre). Ils ont observé l'effet de ce changement sur la valeur des taux d'échantillonnage pour le bisphénol A et 3 hormones (l'œstrone, le 17β -œstradiol et l'éthinylœstradiol). Leurs résultats sont présentés sur la figure 21 :

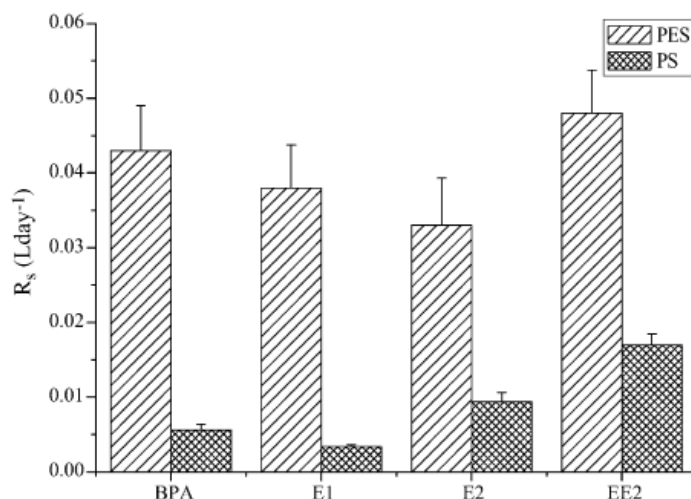


Figure 21 - Effet du changement de membrane sur le taux d'échantillonnage (Zhang et al. 2008)

La membrane en PES semble préférable à celle en PS. En effet, pour un même temps d'exposition, le POCIS classique accumulera entre 3 et 10 fois plus de composés que le POCIS avec la membrane en PS. Même si les auteurs font varier deux paramètres (nature de la membrane et diamètre de pore) simultanément, comme les pores de la membrane en PS sont plus larges que ceux de la membrane en PES, cela n'empêche pas de conclure que la diffusion des composés étudiés se fait moins bien à travers la membrane en PS qu'en PES, et ceci conduit à une accumulation d'une quantité de composés moindre qu'avec la membrane en PES.

La modification de la membrane peut également permettre d'étendre la gamme de polarité des composés échantillonnés de manière linéaire. Sur la figure 22 est présentée l'accumulation du fluoranthène dans des POCIS comportant des membranes en PE (bleu), en Nylon (rouge) et en PES (vert).

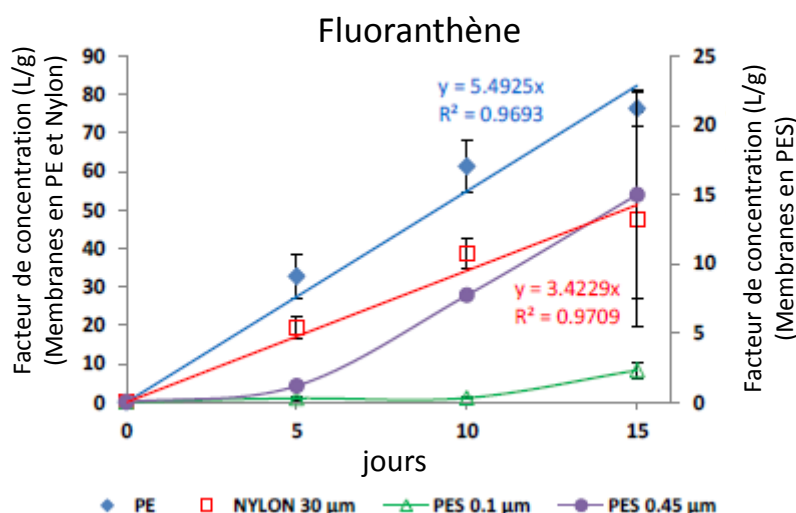


Figure 22 - Accumulation du fluoranthène dans des POCIS comportant des membranes en polyéthylène, en nylon et en PES (Abou Mrad 2011)

Il ressort qu'une très faible quantité de fluoranthène est accumulée dans l'outil classique (Figure 22, courbe en vert). Le fait de remplacer la membrane en PES par une membrane en polyéthylène (membrane non poreuse mais comportant des « cavités » de 10 Å) ou en nylon (30 µm de diamètre de pores) permet d'augmenter d'un facteur 20 la quantité de composés piégée dans le POCIS. De plus, l'accumulation se fait de manière linéaire avec ces deux types de membranes alors qu'on observe un retard à l'accumulation (voir paragraphe 5.8) avec la membrane en PES, quel qu'en soit le diamètre de pores. Modifier la nature de la membrane permet donc d'influencer l'accumulation dans le POCIS.

La disparition avec la membrane en nylon (30 µm) du retard à l'accumulation observé avec les membranes en PES pour les composés hydrophobes a été confirmée par l'étude de Belles et al. (2013). En outre, ces auteurs soulignent un autre intérêt de cette configuration alternative : avec les membranes en nylon (30 µm), l'étape cinétiquement limitante est la diffusion dans la phase réceptrice (intraparticulaire). Il semble donc probable que les conditions hydrodynamiques n'aient pas d'influence sur le comportement de cet outil modifié, rendant par là-même une potentielle application quantitative plus directe.

5.8 Interactions entre les composés organiques et la membrane en Polyéthersulfone

Les observations expérimentales précédemment présentées montrent qu'il existe des interactions entre la membrane du POCIS et les composés organiques ciblés. Ces interactions sont susceptibles d'être plus ou moins intenses en fonction des propriétés physico-chimiques des composés en question. Ce phénomène peut générer divers impacts sur la cinétique d'accumulation de ces composés, et notamment des écarts à la linéarité qui se traduisent par des ordonnées à l'origine des droites de régression non nulles (Figure 23).

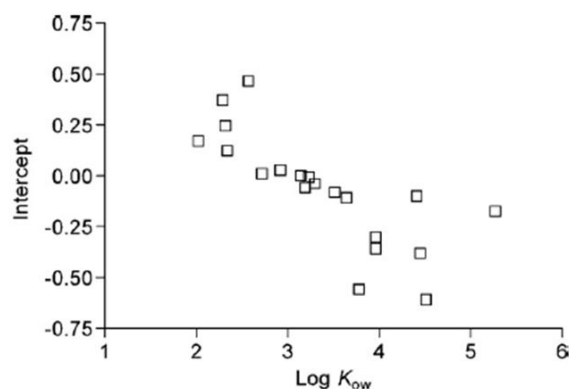


Figure 23 - Ordonnées à l'origine associées aux droites d'accumulation dans les POCIS, en fonction de leur polarité (Harman et al. 2008)

5.8.1 Accumulation initiale maximisée (*burst-effect*)

Pour les composés les plus polaires, c'est un *burst-effect* qui se produit, avec une accumulation plus importante au début de l'exposition qui se traduit par une ordonnée à l'origine positive. Ce phénomène a également été observé par Morin et al. (2013) pour des composés ioniques ou polaires dont le log K_{ow} est compris entre -0,4 et 4.

Le phénomène de *burst-effect* a été expliqué par Alvarez (1999) comme étant une rapide accumulation due au mouillage initial des membranes et de la phase réceptrice du POCIS en début d'exposition.

5.8.2 Retard à l'accumulation (*lag-effect*)

Certains composés organiques présentent un retard à l'accumulation ou *lag-effect*. Ce comportement particulier est typiquement observé pour les composés plutôt hydrophobes. Harman et al. (2008) ont mis en évidence ce phénomène à partir d'un log K_{ow} de 3,1 (Figure 23).

Le phénomène de *lag-effect* résulte de l'affinité des composés pour la membrane en PES (Harman et al. 2008). Il est généralement observé pour les composés relativement apolaires (Figure 23), mais certains composés de polarité moyenne semblent également présenter une importante affinité pour la membrane en PES, comme le diuron (Vermeirssen et al. 2012), sans qu'une explication soit fournie par ces auteurs. Vermeirssen et al. (2012) ont estimé, expérimentalement et par modélisation, des constantes de partage membrane/eau. Les constantes obtenues pour le diuron sont bien plus élevées que pour d'autres composés au log K_{ow} proche. Ce paramètre seul ne suffit donc pas à justifier le comportement de ce composé ; des interactions plus complexes ont lieu entre le diuron et la membrane en PES.

Miège et al. (2012) ont montré que des quantités significatives de certains alkylphénols hydrophobes (log $K_{ow} > 5$) ont été retrouvées dans les membranes en PES. Les quantités retrouvées dans les membranes diminuaient au cours de l'exposition, ce qui a conduit les auteurs à conclure que ces composés étaient d'abord piégés par la membrane avant d'atteindre la phase réceptrice.

Soulier et al. (2011) ont suivi les quantités de 4-nonylphénol accumulées dans la phase et dans la membrane PES de POCIS exposés au laboratoire (Figure 24). La quantité de 4-nonylphénol accumulée dans la membrane augmente en début d'exposition puis se stabilise après une dizaine de jours. En parallèle, on observe un *lag-effect* d'une durée de quelques jours. C'est lorsque la quantité séquestrée dans la membrane ne varie plus que l'accumulation dans la phase devient linéaire.

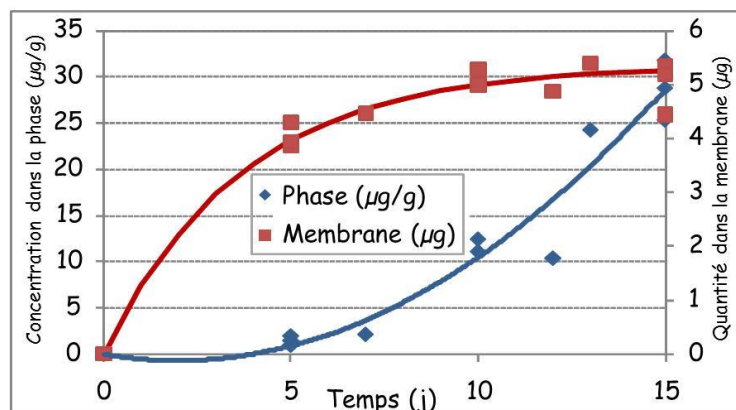


Figure 24 - Suivi de l'accumulation du 4-nonylphénol dans la membrane en PES et dans la phase réceptrice au cours du temps (Soulier et al. 2011)

Ce phénomène avait déjà été observé par S. Lardy-Fontan dans ses travaux de thèse (Lardy-Fontan 2008). Après 3 jours d'exposition dans de l'eau dopée, la proportion des alkylphénols les plus apolaires, dont le 4-nonylphénol, échantillonnée par la phase réceptrice est inférieure à 20 % de la quantité totale échantillonnée par l'ensemble (phase + membrane en PES).

Pour conclure, des phénomènes particuliers impliquant la membrane en PES peuvent intervenir lors d'une exposition de POCIS. Relativement peu de travaux sur les POCIS incluent une étude approfondie des membranes en PES, qui sont généralement jetées. Les premières études sur les mécanismes de transfert à travers la membrane n'ont été publiées que très récemment (Vermeirssen et al. 2012). Pour améliorer la compréhension de tous ces phénomènes, il conviendrait, lors de calibrations en laboratoire, de systématiquement extraire et analyser les membranes des POCIS comme suggéré par Harman et al (2012a).

En outre, au-delà des quelques spécifications communiquées par les fournisseurs, une caractérisation poussée des membranes en PES (aspects de surface, propriétés hydrophobes par mesure d'angle de contact, perméabilité...) pourrait également permettre de mieux appréhender les mécanismes de diffusion à travers la membrane du POCIS.

5.9 Approche « Composé Référence de Performance » (PRC)

Cette synthèse bibliographique a permis de mettre en évidence la multitude de conditions expérimentales qui peuvent jouer sur la cinétique d'accumulation dans un échantillonneur passif. L'idéal serait de réaliser une calibration *in-situ* sur chaque nouveau site de manière à avoir des taux d'échantillonnage représentatifs du milieu étudié. Cependant cette démarche est relativement lourde à mettre en œuvre, et il n'est pas envisageable de l'appliquer à chaque déploiement de POCIS.

Au vu du manque de données sur certains paramètres-clés comme le biofouling par exemple et l'impossibilité de simuler toutes les conditions environnementales, l'approche « Composé Référence de Performance » ou PRC a été développée pour les SPMD par Huckins et al. (2001)

Un PRC est un composé qui n'interfère pas avec le processus d'échantillonnage et l'analyse, et qui est ajouté à la phase réceptrice avant exposition dans le milieu (Huckins et al. 2001). Il s'agit le plus souvent de composés deutérés ou ^{13}C , qui n'existent pas dans le milieu naturel. Il convient de sélectionner des composés se dissipant suffisamment de la phase réceptrice pour quantifier correctement la différence de concentration entre le début et la fin de l'exposition (Booij et al. 2007).

L'équation 12 établit la relation entre la concentration en PRC initiale ($C_{\text{PRC}0}$), la concentration en PRC à un temps t ($C_{\text{PRC}}(t)$), la durée d'exposition (t), et la constante d'élimination du PRC (k_e (PRC), en j^{-1}) (Huckins et al. 2001).

$$C_{\text{PRC}}(t) = C_{\text{PRC}0} e^{-k_e(\text{PRC}) t} \quad \text{Equation 12}$$

Cette constante d'élimination est déterminée à la fois dans les conditions de calibration ($k_e(\text{PRC})_{\text{labo}}$) et sur le terrain ($k_e(\text{PRC})_{\text{in situ}}$). En supposant que l'adsorption des analytes et la désorption du PRC soient isotropes, i.e. suivent la même loi cinétique, la connaissance des constantes d'élimination dans les deux types de conditions permet de corriger le taux d'échantillonnage (Rs) des analytes selon l'équation 13 (Petty et al. 2004) :

$$Rs_{\text{in-situ}} = Rs_{\text{labo}} \times \frac{k_e(\text{PRC})_{\text{in-situ}}}{k_e(\text{PRC})_{\text{labo}}} \quad \text{Equation 13}$$

L'estimation d'un taux d'échantillonnage corrigé de l'effet des variables environnementales nécessite donc :

- La détermination du taux d'échantillonnage en laboratoire
- La détermination de la constante de dissipation du PRC en laboratoire
- La détermination de la constante de dissipation du PRC lors de l'exposition

L'approche PRC a été développée initialement pour les échantillonneurs passifs ciblant les composés organiques hydrophobes. Son extension aux échantillonneurs passifs de type POCIS n'est pas directe car les deux types d'outils reposent sur des mécanismes complètement différents (Alvarez et al. 2007). Alors que pour le SPMD il s'agit de phénomènes de partage entre le milieu et l'échantillonneur, gouvernés par une constante de partage échantillonneur/eau, il s'agit pour le POCIS de phénomènes de diffusion à travers la membrane, et d'adsorption sur la phase réceptrice.

La dissipation de PRC à partir de la phase réceptrice du POCIS implique de nombreux compartiments : couche limite d'eau, surface de la membrane, membrane, eau interstitielle, phase solide... (Harman et al. 2012a). Il peut s'agir de désorption pure mais également de processus de compétition vis-à-vis de l'adsorption. En effet, de nombreux composés présents dans le milieu peuvent présenter une affinité variable pour la phase réceptrice. Il est donc envisageable que la dissipation du PRC puisse être spontanée, mais également le résultat d'un mécanisme de compétition mettant en jeu l'adsorption préférentielle d'un autre composé (Harman et al. 2011a). En effet, la nature et l'intensité des interactions entre les composés et la phase Oasis HLB sont multiples : interactions apolaires de type π - π avec les groupements divinylbenzène, liaisons hydrogène avec les groupements pyrrolidone ou encore interactions de type Van der Waals (Bäuerlein et al. 2012).

Actuellement, seuls certains travaux récents ont permis d'identifier des PRC et d'évaluer leur intérêt par rapport à l'outil classique. Les essais de Mazzella et al. (2010) confirment le potentiel de la désisopropylatrazine d5 (DIA d5) pressenti lors des travaux des mêmes auteurs publiés en 2007.

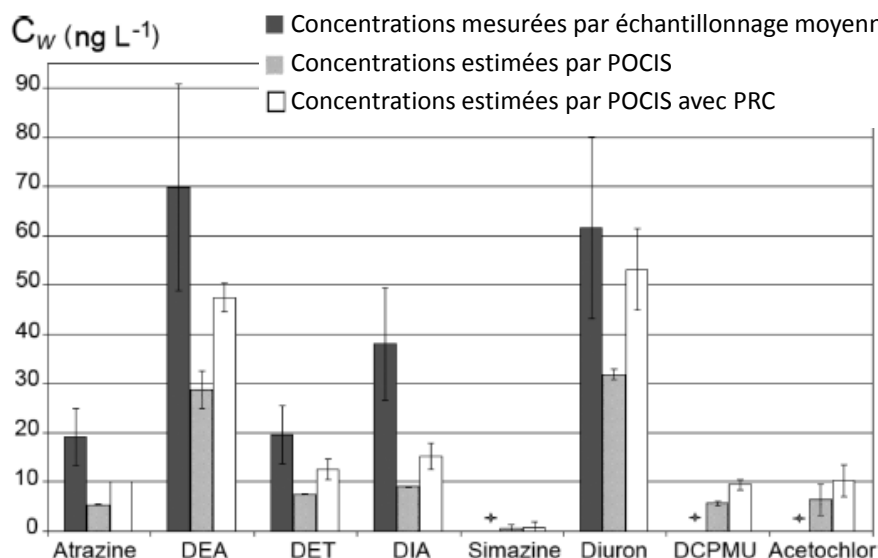


Figure 25 - Comparaison entre les concentrations mesurées par échantillonnage moyenné, et celles estimées par prélèvement passif (avec et sans PRC) (Mazzella et al. 2010)

L'emploi de ce composé a en effet permis d'améliorer de manière significative la justesse des concentrations recalculées (Figure 25). Les auteurs ont toutefois nuancé ces résultats préliminaires en précisant que l'approche PRC n'avait été appliquée qu'à des familles d'herbicides comportant des propriétés physico-chimiques proches.

Vallejo et al. (2013) ont identifié deux hormones : l'œstradiol d3 et l'équiline d4, comme PRC potentiels. Des POCIS comportant ces PRC ainsi que des POCIS classiques ont été exposés en entrée et en sortie d'une STEP allemande. Un échantillonnage moyenné a été conduit en parallèle. Les concentrations estimées avec les POCIS ne comportant pas de PRC sont plus proches des concentrations mesurées dans l'eau, que celles estimées avec les POCIS comportant l'un ou l'autre de ces PRC.

Des études de désorption ont permis d'identifier le potentiel de l'aténolol marqué (Jacquet et al. 2012; Miège et al. 2012). Toutefois, ces travaux n'ont pas inclus une comparaison entre le POCIS comportant ce PRC et le POCIS classique, i.e. aucune conclusion n'a pu être tirée sur l'intérêt réel de l'utilisation de l'aténolol en tant que PRC.

Par ailleurs, Belles (2012) a utilisé, outre la DIA d5, la caféine C₁₃ et le salbutamol d3 comme PRC. Leurs vitesses de dissipation respectives se sont avérées être proches, ce qui a permis à l'auteur de s'appuyer sur plusieurs composés traceurs pour estimer une vitesse de dissipation moyenne, et ainsi d'augmenter la fiabilité des données issues de la dissipation de la DIA d5 seule.

Pour conclure, les exemples d'utilisation permettant d'apprécier l'apport des PRC sont assez peu nombreux. L'utilisation de la DIA d5 a amélioré de manière significative la quantification de certaines

familles d'herbicides. Toutefois, étendre cette approche à d'autres classes de composés semble pour le moment difficile sans de nouveaux travaux axés sur la compréhension des phénomènes.

6. Synthèse

Suite à cette synthèse bibliographique, certains points-clés se dégagent :

- Quelques dizaines de composés organiques sont actuellement réglementés dans les eaux. La législation dans ce domaine évolue et des composés qualifiés d'« émergents » (composés pharmaceutiques, composés perfluorés...) commencent à y être inclus.
- Des familles de composés diverses ont été retenues pour cette étude (pesticides, composés pharmaceutiques, hormones stéroïdiennes, composés perfluorés). Au sein de chaque famille, plusieurs molécules ont été incluses, couvrant ainsi une large gamme de log K_{ow} et plusieurs états d'ionisation à un pH environnemental. Par ailleurs, les études bibliographiques ont permis de confirmer la présence des composés retenus dans l'environnement.
- Dans l'optique d'effectuer une surveillance rapprochée des milieux tout en limitant les coûts associés, les échantillonneurs passifs peuvent présenter un net intérêt. Ce sont des outils simples d'utilisation et ne nécessitant pas d'électricité sur site. De plus, ils accumulent certains composés durant toute la durée d'exposition, réalisant un enrichissement *in-situ*, ce qui peut améliorer la sensibilité du prélèvement dans certains cas et si le temps d'exposition est suffisamment important. L'information fournie est tout à fait pertinente puisque ce sont des concentrations moyennées sur la durée d'exposition i.e. représentatives d'un état moyen du milieu, contrairement à un prélèvement ponctuel par exemple.
- L'outil POCIS en particulier permet d'échantillonner les composés semi-polaires comme les pesticides, les composés pharmaceutiques, les hormones, les alkylphénols... Néanmoins, la détermination des concentrations dans le milieu à partir de POCIS nécessite au préalable d'avoir calibré le système au laboratoire en conditions contrôlées. Etant donné le nombre de variables environnementales qui sont susceptibles d'affecter le comportement du POCIS, la question de la transposition du laboratoire vers le milieu naturel se pose.
- Certains auteurs ont tenté d'appliquer l'approche PRC, initialement développée pour les échantillonneurs passifs hydrophobes, aux POCIS. Même si certains résultats paraissent concluants, cette démarche semble pour le moment limitée à quelques familles de composés aux propriétés physico-chimiques bornées.
- Parmi toutes les variables environnementales qui sont susceptibles d'impacter le taux d'échantillonnage, seules quelques-unes sont documentées par plusieurs auteurs. La tendance à l'augmentation des Rs avec la température et l'agitation paraît indéniable, mais l'influence des autres paramètres semble moins claire.
- Des études complémentaires sont donc nécessaires pour arriver à appréhender la dépendance des taux d'échantillonnage avec ces autres paramètres. C'est d'autant plus important que ces paramètres peuvent varier de manière importante d'un site à l'autre

(teneur en matière organique, salinité...) et au cours du temps sur un même site (débit en sortie d'une STEP par exemple). La caractérisation du domaine de variation du taux d'échantillonnage avec les variables environnementales les plus pertinentes pourrait permettre d'aller, *a minima*, vers une évaluation semi-quantitative des concentrations dans le milieu sans mettre en œuvre des calibrations *in-situ* relativement lourdes et sans développer l'approche PRC.

Objectifs de thèse

La synthèse bibliographique a fait ressortir le fait que de plus en plus de micropolluants organiques sont inclus dans la réglementation sur l'eau. Certaines études sur le POCIS se focalisent sur une seule classe de composés, aux propriétés physico-chimiques relativement proches. Dans le cadre de ces travaux de thèse, ce sont des familles de composés aux propriétés délibérément très diverses qui ont été choisies. Au sein de chaque famille, plusieurs composés « traceurs », représentatifs d'un impact anthropique sur l'environnement, ont été sélectionnés. Lors du choix des composés, une attention particulière a été apportée à la gamme de polarité couverte.

Les travaux de recherche conduits dans le cadre de cette thèse se sont attachés à évaluer le POCIS comme outil de prélèvement passif dans un contexte opérationnel. Dans ce but, les POCIS ont été validés et appliqués dans différents systèmes de complexité croissante : à l'échelle laboratoire, à l'échelle pilote et enfin dans l'environnement. Des taux d'échantillonnage ont été déterminés dans les différents milieux. Les exemples de taux d'échantillonnage déterminés sur site ne sont pas très nombreux dans la littérature. Pourtant cette démarche prometteuse, même si elle comporte certains aspects logistiques contraignants, mériterait d'être davantage explorée afin de mieux caractériser le domaine de variation des taux d'échantillonnage dans des conditions expérimentales pertinentes.

Dans un premier temps, des méthodes analytiques multi-résidus incluant l'ensemble des composés étudiés ont été développées et validées, le but principal étant d'avoir des méthodes opérationnelles dans les deux laboratoires : au LPTC à Bordeaux et chez VERI à Saint-Maurice. Une première calibration des POCIS au laboratoire a permis de valider le système expérimental ainsi que les conditions opératoires. Une étude simultanée de modélisation menée par une équipe de VERI a également conduit à la validation du système de calibration en termes d'hydrodynamisme et d'homogénéité. Cette double démarche, sans précédent dans la littérature, a permis de caractériser finement le système de calibration utilisé au laboratoire. Les résultats de ces études sont présentés dans la **publication n°1**.

Parallèlement à ces premiers essais, des tests sur différentes phases adsorbantes ont été menés afin de sélectionner les phases réceptrices les plus prometteuses. Des POCIS avec différents designs (aussi bien phase que membrane) ont ensuite été testés en laboratoire. Les résultats sont l'objet de la **publication n°3**. Un focus particulier sur les composés perfluorés a été fait dans la **publication n°2**, en incluant également des résultats en matrice réelle.

Dans un second temps, et dans un souci de représentativité par rapport au milieu naturel, les POCIS ont été exposés dans un pilote alimenté avec différents types d'eau (eau de surface, eau usée traitée...). La synthèse bibliographique a permis de souligner le fait que de nombreux paramètres environnementaux pouvaient influencer le taux d'échantillonnage. Par conséquent, l'impact des variables environnementales les plus pertinentes, comme le débit, la matrice ou encore la température sur les taux d'échantillonnage, a été évalué. La capacité du POCIS à intégrer des événements ponctuels comme des pics de pollution a également été étudiée (**publication n°5**).

Enfin, l'applicabilité du POCIS en station d'épuration et en rivière a pu être testée sur deux sites d'étude. Le premier objectif de ces essais était d'obtenir des taux d'échantillonnage *in-situ*, et de les confronter aux taux d'échantillonnage obtenus au laboratoire ou sur pilote. Un autre objectif majeur de ces expositions sur site était de positionner le POCIS par rapport aux techniques d'échantillonnage traditionnelles, à la fois en termes de logistique et en termes de résultats (concentrations dans l'eau, sensibilité, effet de matrice...). Ces résultats de terrain figurent dans la **publication n°4**.

La participation à des essais inter-laboratoires organisés par l'association NORMAN et portant spécifiquement sur les prélèvements passifs a permis de valider la méthodologie d'extraction, d'analyse et de détermination des concentrations dans l'eau à partir des POCIS.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

Ce chapitre vise à présenter les conditions expérimentales des différents essais qui ont été mis en œuvre dans le cadre de ces travaux de thèse.

Ces travaux ont été conduits sur deux sites différents : le Laboratoire de Physico- et Toxico Chimie de l'environnement (LPTC) à Bordeaux (33), et le laboratoire de Veolia Environnement Recherche & Innovation (VERI) à Saint-Maurice (94).

Par conséquent, certains éléments utilisés (matériel, méthodes analytiques...) peuvent différer entre les deux sites. Dans ce cas, la distinction entre les deux types de conditions a été précisée.

1. Molécules étudiées

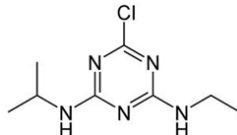
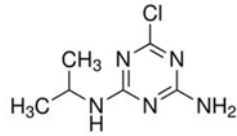
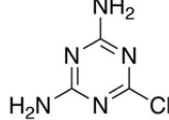
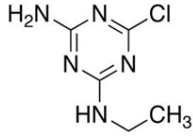
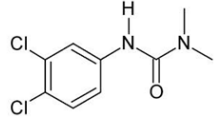
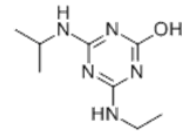
Le tableau 23 regroupe les principales propriétés physico-chimiques des composés étudiés dans le cadre de ces travaux.

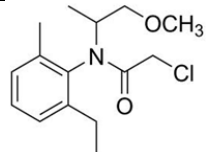
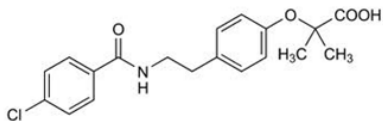
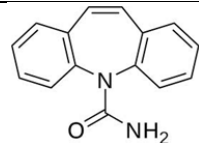
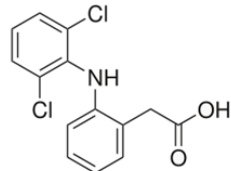
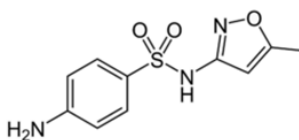
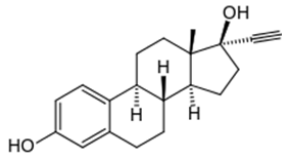
Aucun coefficient de partage octanol/eau ($\log K_{ow}$) n'a été spécifié pour les composés perfluorés car ces molécules ont un caractère tensio-actif avec une extrémité polaire et une chaîne fluorocarbonée apolaire. Il n'est donc pas possible de déterminer expérimentalement ce paramètre et les estimations par des modèles conduisent à des résultats incohérents.

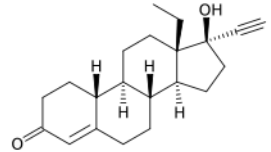
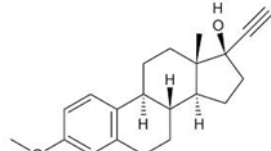
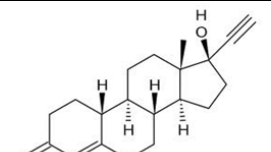
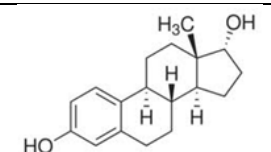
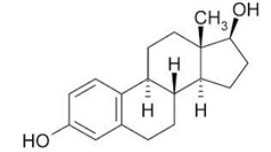
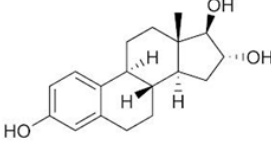
Parmi les composés pharmaceutiques étudiés, le bézafibrate, le diclofénac et le sulfaméthoxazole sont ioniques ou partiellement ionisés à un pH environnemental, il est donc pertinent de considérer aussi le $\log D$.

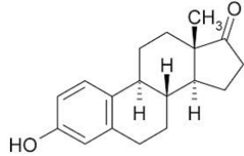
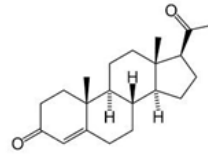
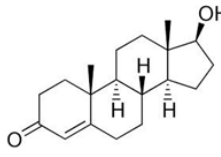
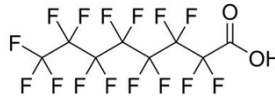
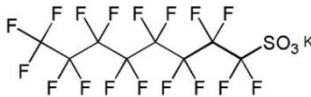
Dans le tableau 23 figurent également les fournisseurs et la pureté des standards mis en œuvre pour l'ensemble de ces travaux.

Tableau 23 - Caractéristiques des molécules étudiées

	Molécule	Famille, classe	Numéro CAS	Masse molaire (g/mol)	Log K _{ow}	Propriétés acido-basiques	Formule brute	Formule développée	Fournisseur et pureté
PESTICIDES	Atrazine	Herbicide (Triazine)	1912-24-9	215,7	2,82	pKa = 1,24 (N aromatique) Neutre à pH 7	C ₈ H ₁₄ ClN ₅		Dr Ehrenstorfer 100%
	Atrazine-déséthyl (DEA)	Sous-produit de l'atrazine	6190-65-4	187,6	1,78	pKa = 1,5 (N aromatique) Neutre à pH 7	C ₆ H ₁₀ ClN ₅		Dr Ehrenstorfer 96%
	Atrazine-déséthyl-désisopropyl (DEDIA)	Sous-produit de l'atrazine	3397-62-4	145,6	-0,1	pKa = 1,81 (N aromatique) Neutre à pH 7	C ₃ H ₄ ClN ₅		Dr Ehrenstorfer 98%
	Atrazine-désisopropyl (DIA)	Sous-produit de l'atrazine	1007-28-9	173,6	1,36	pKa = 1,5 (N aromatique) Neutre à pH 7	C ₅ H ₈ ClN ₅		Dr Ehrenstorfer 99%
	Diuron	Herbicide (Phénylurée)	330-54-1	233,1	2,67	pKa = 12,7 Neutre à pH 7	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O		Dr Ehrenstorfer 97,7%
	Hydroxyatrazine	Sous-produit de l'atrazine	2163-68-0	197,2	2,09	pKa = 5,2 (N aromatique) Neutre à pH 7	C ₈ H ₁₅ N ₅ O		Dr Ehrenstorfer 98%

	Molécule	Famille, classe	Numéro CAS	Masse molaire (g/mol)	Log K _{ow}	Propriétés acido-basiques	Formule brute	Formule développée	Fournisseur et pureté
	Métolachlor	Herbicide (organochloré)	51218-45-2	283,8	3,24	Pas de propriétés acido-basiques	C ₁₅ H ₂₂ ClNO ₂		Dr Ehrenstorfer 97%
COMPOSES PHARMACEUTIQUES	Bézafibrate	Hypolipémiant	41859-67-0	361,8	4,25	pK _a = 3,8 (-COOH) Anionique à pH 7 Log D = 1,1	C ₁₉ H ₂₀ ClNO ₄		Sigma Aldrich 98%
	Carbamazépine	Anti-épileptique	298-46-4	236,3	2,25	pK _a = 16 Neutre à pH 7	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O		Sigma Aldrich 98%
	Diclofénac	Anti-inflammatoire non stéroïdien	15307-79-6	296,2	4,02	pK _a = 4 (-COOH) Anionique à pH 7 Log D = 1	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂		Sigma Aldrich 98%
	Sulfaméthoxazole	Antibiotique	723-46-6	253,3	0,48	pK _{a1} = 1,97 (-NH ₂) pK _{a2} = 6,1 (-NH) Neutre à pH 7 Log D = - 0,4	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S		Sigma Aldrich 98%
HORMONES STEROIDIENNES	Ethinylestradiol	Œstrogène de synthèse	57-63-6	296,4	4,12	pK _a = 10,3 Neutre à pH 7	C ₂₀ H ₂₄ O ₂		Santa Cruz Biotechnology 98%

	Molécule	Famille, classe	Numéro CAS	Masse molaire (g/mol)	Log K _{ow}	Propriétés acido-basiques	Formule brute	Formule développée	Fournisseur et pureté
	Lévonorgestrel	Progestagène de synthèse	797-63-7	312,5	3,8	pKa = 17,9 Neutre à pH 7	C ₂₁ H ₂₈ O ₂		Sigma Aldrich 99%
	Mestranol	Œstrogène de synthèse	72-33-3	310,4	4,68	pKa = 17,6 Neutre à pH 7	C ₂₁ H ₂₆ O ₂		Sigma Aldrich 99%
	Noréthindrone	Progestagène de synthèse	68-22-4	298,4	2,99	pKa = 17,6 Neutre à pH 7	C ₂₀ H ₂₆ O ₂		Sigma Aldrich 99%
	17-alpha-œstradiol	Œstrogène naturel	57-91-0	272,4	3,94	pKa = 10,3 Neutre à pH 7	C ₁₈ H ₂₄ O ₂		Sigma Aldrich 98%
	17-beta-œstradiol	Œstrogène naturel	50-28-2	272,4	3,94	pKa = 10,3 Neutre à pH 7	C ₁₈ H ₂₄ O ₂		Sigma Aldrich 98%
	Œstriol	Œstrogène naturel	50-27-1	288,4	2,81	pKa = 10,3 Neutre à pH 7	C ₁₈ H ₂₄ O ₃		Sigma Aldrich 99%

	Molécule	Famille, classe	Numéro CAS	Masse molaire (g/mol)	Log K _{ow}	Propriétés acido-basiques	Formule brute	Formule développée	Fournisseur et pureté
	Estrone	Œstrogène naturel	53-16-7	270,4	3,43	pKa = 10,3 Neutre à pH 7	C ₁₈ H ₂₂ O ₂		Sigma Aldrich 99%
	Progestérone	Progestagène naturel	57-83-0	314,5	3,67	pKa = 18,9 Neutre à pH 7	C ₂₁ H ₃₀ O ₂		Sigma Aldrich 98%
	Testostérone	Androgène naturel	58-22-0	288,4	3,27	pKa = 19,1 Neutre à pH 7	C ₁₉ H ₂₈ O ₂		Sigma Aldrich 98%
PERFLUORES	Acide perfluorooctanoïque (PFOA)	Tensioactif fluoré synthétique	335-67-1	414,1	-	pKa = 2,8 (-COOH) Anionique à pH 7	C ₈ HF ₁₅ O ₂		Sigma Aldrich 96%
	Perfluorooctanesulfonate de potassium (PFOS)	Tensioactif fluoré synthétique	2795-39-3	538,2	-	pKa = 0,14 (-SO ₃ H) Anionique à pH 7	C ₈ F ₁₇ O ₃ SK		Sigma Aldrich 98%

Le domaine de polarité (exprimé en log K_{ow}) couvert par les composés sélectionnés est donc très vaste : autour de 0 pour la DEDIA à 4,7 pour le mestranol. La plupart des composés sont sous forme neutre à un pH environnemental et certains sont anioniques.

Les données figurant dans les cases bleues ont été obtenues grâce au logiciel KOWWIN.

Les données figurant dans les cases rouges ont été obtenues sur le site www.drugbank.ca (Log K_{ow} expérimental)

Les données figurant dans les cases oranges ont été obtenues sur le site www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

Les données figurant dans les cases vertes ont été obtenues grâce au logiciel SPARC.

Les données figurant dans les cases grises ont été tirées des travaux de Schmitt et al. (1996)

2. Produits chimiques, solvants et matériel

Les produits chimiques et les solvants utilisés pour l'ensemble des essais figurent dans le tableau 24. Le matériel mis en œuvre est quant à lui indiqué dans le tableau 25. D'une manière générale, l'emploi de matériel en verre et en Téflon (PTFE) a été évité autant que possible pour les essais impliquant les composés perfluorés (PFC) pour limiter au maximum les risques de relargage ou d'adsorption de ces composés.

Tableau 24 - Produits chimiques, solvants et gaz utilisés dans le cadre de ces travaux

	Désignation	Qualité	Marque ou fournisseur
Solvants et produits chimiques Site de Bordeaux	Méthanol	JT Baker Ultra gradient HPLC grade	Atlantic Labo, Bruges, France
	Dichlorométhane	Acros organic, for residue and pesticides analysis	Fisher Scientific, Illkirch, France
	Acétonitrile	JT Baker Ultra gradient HPLC grade	Atlantic Labo, Bruges, France
	Eau Milli-Q	-	Millipore, Saint-Quentin-en-Yvelines, France
	Eau minérale Vittel	-	France Boissons, Rueil-Malmaison, France
	Acide formique	Baker analyzed, 98%	Atlantic Labo, Bruges, France
	Thiosulfate de Sodium	99,5%	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
Solvants et produits chimiques Site de Saint Maurice	Méthanol	LiChroSolv Hypergrade	VWR, Fontenay-sous-bois, France
	Dichlorométhane	SupraSolv	VWR, Fontenay-sous-bois, France
	Acétonitrile	Chromasolv for HPLC gradient grade	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Cyclohexane	Normapur	VWR, Fontenay-sous-bois, France
	Eau HPLC	HiPerSolv Chromanorm	VWR, Fontenay-sous-bois, France
	Eau minérale Evian	-	Rouquette, Chelles, France
	Acide formique	Fluka, 98%	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
Gaz Site de Bordeaux	Azote	4.5 (> 99,995%)	Linde Gas, Saint Priest, France
Gaz Site de Saint Maurice	Azote	6.0 (> 99.9999%)	Messer, Puteaux, France

Tableau 25 - Matériel utilisé dans le cadre de ces travaux

	Désignation	Marque ou fournisseur
Matériel SPE	Cartouches Oasis HLB 6 cc, 200 mg	Waters, Guyancourt, France
	Charbon actif (noix de coco)	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Cartouches SDB-1, Baker	Atlantic Labo, Bruges, France
	Phase Serdolit III, Serva	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Phase Diaion HP20, Supelco	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Phase Discovery DCS18, Supelco	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Cuve SPE Visiprep 12 et 24 postes	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
Evaporation Site de Saint-Maurice	Evaporateur Turbo Vap LV Evaporator	Zymark
Matériel POCIS	Phase Oasis HLB en vrac, 200 g, 60 µm	Waters, Guyancourt, France
	Membranes en polyéthersulfone (PES) PALL SUPOR 100, 90 mm de diamètre 0,1 µm de diamètre de pores	VWR, Fontenay-sous-bois, France
	Membranes en nylon GE Healthcare, 90 mm de diamètre 0,1 µm de diamètre de pores	Fisher Scientific, Illkirch, France
	Membranes en polycarbonate (PC) GE Healthcare, 90 mm de diamètre 0,1 µm de diamètre de pores	Fisher Scientific, Illkirch, France
	Vis et écrous en Inox A4	BVF, Bègles, France
	Cartouches en verre 6 mL	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Frittés en Téflon	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Cartouches en polypropylène 6 mL	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Frittés en polyéthylène	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Holders et cages d'exposition	Exposmeter, Tavelesjö, Suède
	Pompes péristaltiques (laboratoire) P1, P2	Ismatec, Glattbrugg, Suisse
	Pompes péristaltiques (pilote) P3	Seko, Rieti, Italie
	Pompes péristaltiques (pilote) P4	Gilson, Middleton, USA
	Moteur d'agitation (laboratoire) RZR1	Heidolph, Schwabach, Allemagne
	Moteur d'agitation (pilote)	MDP, Miribel, France
	Tuyaux Tygon®	Fisher Scientific, Illkirch, France
	Tuyaux Gilson	Gilson, Middleton, USA
Verrerie et flaconnage	Flacons en verre de 15 mL	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Flacons en verre de 22 mL	Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France
	Bouteilles en verre de 250 et 500 mL	Duran, Clichy, France
	Flacons en polypropylène de 15 mL	VWR, Fontenay-sous-bois, France

	Désignation	Marque ou fournisseur
	(centrifugeuse)	
	Flacons en polyéthylène haute densité (PEHD), Nalgene de 250, 500 mL et 1 L	Fisher Scientific, Illkirch, France
Injections Site de Bordeaux	Restricteurs en verre 250 µL	Agilent technologies, Les Ulis, France
	Restricteurs en polypropylène 400 µL	Agilent technologies, Les Ulis, France
	Septa Silicone/Téflon	Agilent technologies, Les Ulis, France
Injections Site de Saint-Maurice	Vials d'injection à sertir ambrés 1,5 mL	VWR, Fontenay-sous-bois, France
	Restricteurs en verre 250 µL	VWR, Fontenay-sous-bois, France
	Bouchons à sertir avec septum PTFE	VWR, Fontenay-sous-bois, France

3. Analyse par LC-MS/MS et quantification des analytes

Les échantillons de tous les essais ont été analysés en chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (LC-MS/MS) avec une source d'ionisation par électrospray (ESI). Les appareils utilisés étaient du type « triple-quadrupôle », utilisés en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring).

Il s'agit lors d'une analyse en LC-MS/MS de séparer les différents constituants d'un échantillon par leur affinité relative pour une phase stationnaire (la colonne chromatographique) et une phase mobile. La colonne généralement utilisée est une colonne de silice greffée avec des chaînes alkyles (C_{18}). Habituellement, les phases mobiles sont l'eau et un solvant organique miscible à l'eau, par exemple le méthanol ou l'acétonitrile. Des acides ou des sels peuvent y être ajoutés en faibles quantités afin d'améliorer l'ionisation des composés ou la résolution chromatographique. Les composés sont ensuite ionisés au niveau de la source du spectromètre de masse puis entrent dans le premier quadrupôle, où certains ions sont sélectionnés selon leur rapport masse sur charge (m/z) puis fragmentés dans une cellule de collision. Les fragments générés traversent ensuite le second quadrupôle avant d'atteindre le détecteur. Cette approche qui consiste à suivre des ions précurseurs, les fragmenter, puis suivre des ions fils, s'appelle la MRM. Elle est généralement utilisée à des fins de quantification de composés présents à l'état de traces dans des échantillons complexes.

D'après la décision 2002/657/CE de la commission européenne relative à l'analyse quantitative de résidus organiques, un minimum de 4 critères d'identification est nécessaire pour les analyses en LC-MS/MS : le temps de rétention de l'analyte dans l'échantillon (par rapport à une solution standard), deux transitions en spectrométrie de masse et le rapport d'intensité entre ces deux transitions.

C'est la méthode dite d' « étalonnage interne » qui a été utilisée pour quantifier les analytes. Cette technique repose sur l'ajout, en quantité connue et en début de protocole, de composés initialement absents de l'échantillon : les étalons internes (EI). Pour que cette technique fonctionne correctement, il est nécessaire que l'analyte et son étalon interne aient un comportement similaire au cours de l'extraction (adsorption, élution...), de l'évaporation (dégradation, volatilité...) et de l'analyse (temps de rétention, ionisation...). Il faut donc que l'analyte et l'étalon interne aient des propriétés physico-chimiques proches. Idéalement, en spectrométrie de masse, c'est un analogue isotopique (ou isotopomère) de l'analyte qui sera sélectionné. Certains atomes d'hydrogène ou de carbone du composé étudié sont remplacés respectivement par des deutériums ou des ^{13}C sur l'étalon interne. Cependant ces composés ne sont pas toujours disponibles commercialement et peuvent présenter un coût élevé. Par conséquent, un même étalon interne peut être utilisé pour quantifier différentes molécules appartenant à une même famille et possédant des propriétés physico-chimiques proches. Dans le tableau 26 figurent les étalons internes utilisés pour quantifier les composés étudiés.

Tableau 26 - Quantification des composés étudiés par étalonnage interne

Analyte	Etalon interne associé	Fournisseur et pureté de l'EI
Atrazine	Atrazine d5	Dr Ehrenstorfer, 98%
DEA	DIA d5	Dr Ehrenstorfer, 98%
DEDIA	DIA d5	Dr Ehrenstorfer, 98%
DIA	DIA d5	Dr Ehrenstorfer, 98%
Diuron	Diuron d6	Dr Ehrenstorfer, 99,5%
Hydroxyatrazine	Atrazine d5	Dr Ehrenstorfer, 98%

Métolachlore	Diuron d6	Dr Ehrenstorfer, 99,5%
Bézafrate	Bezafibrate d6	Alsachim, 98,8%
Carbamazépine	Carbamazépine d10	CDN Isotopes, 98,2%
Diclofénac	Diclofénac d4	CDN Isotopes, 92,8%
Sulfaméthoxazole	Sulfaméthoxazole ¹³ C6	Sigma Aldrich, 99%
Ethinylœstradiol	17-beta-œstradiol d4	CDN Isotopes, 98%
Lévonorgestrel	17-beta-œstradiol d4	CDN Isotopes, 98%
Mestranol	17-beta-œstradiol d4	CDN Isotopes, 98%
Noréthindrone	Testostérone d3	Sigma Aldrich, 98%
17-alpha-œstradiol	17-beta-œstradiol d4	CDN Isotopes, 98%
17-beta-œstradiol	17-beta-œstradiol d4	CDN Isotopes, 98%
œstriol	œstrone d4	CDN Isotopes, 98%
œstrone	œstrone d4	CDN Isotopes, 98%
Progestérone	Progestérone d9	CDN Isotopes, 98,3%
Testostérone	Testostérone d3	Sigma Aldrich, 98%
PFOA	PFOA ¹³ C4	Wellington Labs, 98% (50 µg/mL MeOH)
PFOS	PFOS ¹³ C4	Wellington Labs, 98% (50 µg/mL MeOH)

Des solutions mères individuelles à des concentrations d'environ 100 µg/g ont été préparées pour chaque composé et chaque étalon interne par pesée des étalons et dissolution dans du méthanol.

Des solutions de travail en mélange à des concentrations d'environ 5 µg/g ont été préparées à partir des solutions mères individuelles. Pour les étalons internes des composés perfluorés, les solutions de travail ont été directement préparées à partir des solutions à 50 µg/mL fournies par Wellington Labs. Toutes les solutions ont été stockées au congélateur à -20°C.

3.1 Méthodes analytiques développées sur le site de Bordeaux (LPTC)

Dans un premier temps, des méthodes analytiques ont été développées par famille de composés : une méthode spécifique des hormones a été développée, et une autre pour les pesticides et les composés pharmaceutiques. Les conditions d'analyse (colonne, phase mobile...) obtenues étaient suffisamment proches pour envisager de tout regrouper dans une seule méthode sans engendrer de perte de sensibilité majeure. En effet, l'utilisation d'une méthode d'analyse unique permet un gain de temps très important.

Sur le site de Bordeaux, le système d'analyse utilisé était le suivant :

- Chromatographe : Agilent Infinity 1290 (Agilent, Santa Clara, USA).
 - passeur d'échantillons réfrigéré
 - pompe quaternaire
 - four contenant la colonne chromatographique
- Spectromètre de masse : Agilent 6460 (triple quadripôle) équipé d'une interface ESI avec la technologie JetStream. Cette technologie consiste à focaliser le spray dans la source d'ionisation grâce à l'ajout d'un flux d'azote chauffé autour du spray.

3.1.1 Méthode analytique multi-résidus : pesticides, hormones, composés pharmaceutiques

Le tableau 27 regroupe l'ensemble des conditions chromatographiques pour l'analyse des pesticides, des hormones et des composés pharmaceutiques sur le site de Bordeaux.

Tableau 27 - Conditions chromatographiques pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Bordeaux

Colonne	C ₁₈ Zorbax Eclipse Plus (100 x 2,1 mm, 1,8 µm)	
Température de la colonne	35°C	
Phases mobiles	A : Eau + 0,1% acide formique B : Acétonitrile + 0,1% acide formique	
Gradient	Temps (minutes)	% B
	0	0
	11	100
	11,5	100
	12,5	0
	15	0
Durée de l'analyse	15 minutes	
Débit	0,4 mL/min	
Volume injecté	5 µL	
Solvant d'injection	Eau / MeOH 50/50	

Le tableau 28 présente les paramètres de l'interface électrospray du spectromètre de masse. Ces paramètres sont communs pour l'ensemble des composés de la méthode et ont été optimisés lors de la phase de développement.

Tableau 28 - Paramètres du spectromètre de masse Agilent 6460 pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Bordeaux

Mode d'ionisation	ESI+
Tension du capillaire	3500 V
Température du gaz de désolvatation	300°C
Débit du gaz de désolvatation	8 L/min
Pression du gaz de nébulisation	40 psi
Température du « sheath gas »	400°C
Débit du « sheath gas »	11 L/min
« Nozzle voltage »	1300 V

Dans le tableau 29 figurent les paramètres optimisés du spectromètre de masse spécifiques à chaque composé.

Tableau 29 - Transitions et paramètres associés mis en œuvre pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Bordeaux

	Composé	Ion précurseur	Ion produit (quantification)	Energie de collision (V)	Ion produit (confirmation)	Energie de collision (V)	Tension de fragmentor (V)
PESTICIDES	Atrazine	216,1	174,0	12	68,0	40	109
	Atrazine d5	221,1	179,0	16	-	-	116
	DEA	188,1	146,0	12	43,1	40	103
	DEDIA	146,0	43,1	32	68,0	20	99
	DIA	174,1	68,0	32	96,0	16	119
	DIA d5	179,1	101,0	16	-	-	119
	Diuron	233,0	72,0	16	46,1	12	114
	Diuron d6	239,1	78,0	24	-	-	109
	Hydroxyatrazine	198,1	156,0	12	86,0	20	132
	Métolachlor	284,1	176,1	24	252,0	12	97
COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES	Bézafrate	362,1	316,0	8	138,9	24	104
	Bézafrate d6	368,2	138,9	24	-	-	104
	Carbamazépine	237,1	194,0	14	192,0	20	120
	Carbamazépine d10	247,1	204,1	16	-	-	119
	Diclofénac	296,0	214,0	32	277,9	4	92
	Diclofénac d4	300,1	218,0	32	-	-	87
	Sulfaméthoxazole	254,1	156,0	8	92,0	24	99
	Sulfaméthoxazole ¹³ C ₆	260,1	98,0	24	-	-	94
HORMONES	Ethinylœstradiol	279,2	133,0	12	159,0	20	109
	Lévonorgestrel	313,2	109,1	28	91,0	54	121
	Mestranol	293,2	147,1	16	172,5	16	119
	Norethindrone	299,2	109,0	28	91,0	48	141
	17-alpha-œstradiol	255,2	159,0	12	133,0	20	87
	17-beta-œstradiol	255,2	159,0	12	133,0	20	87
	17-beta-œstradiol d4	259,2	161,1	16	-	-	84
	œstriol	271,1	253,1	4	133,0	24	79
	œstrone	271,2	253,1	8	133,0	20	79
	œstrone d4	275,2	257,1	8	-	-	72
	Progestérone	315,2	97,0	24	109,0	24	109
	Progestérone d9	324,3	100,1	20	-	-	141
	Testostérone	289,2	97,0	24	109,0	20	126
	Testostérone d3	292,2	97,0	20	-	-	111

Chacune des transitions pour les trois classes de composés est scannée successivement pendant 5 ms (« dwell time »).

3.1.2 Méthode analytique pour les composés perfluorés

Le tableau 30 regroupe l'ensemble des conditions chromatographiques pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Bordeaux.

Tableau 30 - Conditions chromatographiques pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Bordeaux

Colonne	C ₁₈ Zorbax Eclipse Plus (100 x 2,1 mm, 1,8 µm)	
Température de la colonne	35°C	
Phases mobiles	A : Eau + 0,1% acide formique B : Acétonitrile + 0,1% acide formique	
Gradient	Temps (minutes)	% B
	0	0
	9	100
	9,5	100
	10	0
	13	0
Durée de l'analyse	15 minutes	
Débit	0,4 mL/min	
Volume injecté	5 µL	
Solvant d'injection	Eau / MeOH 50/50	

Les composés perfluorés sont analysés en mode d'ionisation négatif. Cela signifie qu'une déprotonation des molécules d'intérêt a lieu dans la source du spectromètre de masse. Par conséquent, ce mode d'ionisation est particulièrement indiqué pour les composés ayant un caractère acide, comme les composés perfluorés.

Lors des développements analytiques, il a été envisagé de ne faire qu'une seule méthode basculant entre mode positif et négatif, ce qui impliquait l'utilisation de phases mobiles similaires pour les deux modes. Parmi tous les composés ciblés, ce sont les hormones pour lesquelles la sensibilité est la plus faible. Ce sont donc ces composés qui ont orienté le choix de phase mobile. Par la suite, il s'est avéré difficile d'envisager une seule méthode avec switch positif/négatif car les temps de rétention de certains composés étaient trop proches. L'approche retenue a donc été d'avoir deux méthodes avec des conditions opératoires identiques (solvant de reprise, phases mobiles) pour injecter chaque échantillon deux fois successivement, une fois en mode positif et une fois en mode négatif. Cela explique l'emploi, non habituel, de phases mobiles acidifiées en mode d'ionisation négatif. Malgré la présence d'acide, la sensibilité obtenue pour les composés perfluorés est satisfaisante.

Le tableau 31 présente les paramètres de l'interface électrospray du spectromètre de masse. Ces paramètres sont communs pour l'ensemble des composés de la méthode et ont été optimisés lors de la phase de développement.

Tableau 31 - Paramètres du spectromètre de masse Agilent 6460 pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Bordeaux

Mode d'ionisation	ESI-
Tension du capillaire	2750 V
Température du gaz de désolvatation	320°C
Débit du gaz de désolvatation	4 L/min
Pression du gaz de nébulisation	60 psi
Température du « sheath gas »	350°C
Débit du « sheath gas »	12 L/min
« Nozzle voltage »	0 V

Dans le tableau 32 figurent les paramètres optimisés du spectromètre de masse spécifiques à chaque composé.

Tableau 32 - Transitions et paramètres associés mis en œuvre pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Bordeaux

Composé	Ion précurseur	Ion produit (quantification)	Energie de collision (V)	Ion produit (confirmation)	Energie de collision (V)	Tension de fragmentor (V)
PFOA	413,0	368,9	4	168,9	12	82
13C4-PFOA	416,9	371,9	4	-	-	82
PFOS	498,9	79,9	60	98,9	44	188
13C4-PFOS	502,9	79,9	60	-	-	188

Chacune des transitions pour les composés perfluorés est scannée successivement pendant 20 ms (« dwell time »).

3.1.3 Quantification

Les intégrations ont été menées avec le logiciel MassHunter (Agilent, Santa Clara, USA) sur le module Qualitative Analysis.

Les analytes ont été quantifiés en déterminant un coefficient de réponse propre à chaque composé, par rapport à l'étalon interne associé. Cela est réalisé à partir de l'injection d'une solution standard contenant tous les composés étudiés ainsi que tous les étalons internes. La réponse de l'appareil est proportionnelle à la masse de composé injectée, pour les analytes et les étalons internes. On a donc, pour le composé natif et l'étalon interne, notés respectivement i et e :

$$A_i = k_i * m_i \quad \text{Equation 14}$$

$$A_e = k_e * m_e \quad \text{Equation 15}$$

Avec :

- A_i : Aire du composé natif i
- A_e : Aire de l'étalon interne associé
- k_i : Facteur de réponse du composé i
- k_e : Facteur de réponse de l'étalon interne
- m_i : Masse de composé i injectée
- m_e : Masse d'étalon interne injectée

Le coefficient de réponse du composé i (K_i) par rapport à son étalon interne s'écrit donc :

$$K_i = \frac{k_e}{k_i} = \frac{A_e * m_i}{A_i * m_e} \quad \text{Equation 16}$$

Pour un composé possédant son propre analogue marqué, le coefficient de réponse est généralement proche de 1.

Pour déterminer la quantité en composé i dans un échantillon inconnu, la formule suivante est employée :

$$m_i = K_i * \frac{A_i * m_e}{A_e} \quad \text{Equation 17}$$

La justesse de cette quantification est vérifiée sur une seconde solution étalon aux concentrations en composés natifs et étalons internes connues. Les analytes sont quantifiés comme dans un échantillon inconnu et la quantité calculée est comparée à la quantité théorique. Le rendement de quantification doit être compris entre 80 et 120%.

3.2 Méthodes analytiques développées sur le site de Saint-Maurice (VERI)

Sur le site de Saint-Maurice, le système d'analyse utilisé est le suivant :

- Chromatographe : Thermo LC Surveyor (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA).
 - passeur automatique réfrigéré
 - pompe surveyor quaternaire
 - four contenant la colonne chromatographique
- Spectromètre de masse : TSQ Quantum (triple quadripôle) équipé d'une interface ESI.

3.2.1 Méthode analytique multi-résidus : pesticides, hormones, composés pharmaceutiques

Le tableau 33 regroupe l'ensemble des conditions chromatographiques pour l'analyse des pesticides, des hormones et des composés pharmaceutiques sur le site de Saint-Maurice.

Tableau 33 - Conditions chromatographiques pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Saint-Maurice

Colonne	C ₁₈ BDS Hypersil (100 x 2,1 mm, 3 µm)	
Température de la colonne	35°C	
Phases mobiles	A : Eau + 0,1% acide formique B : Acétonitrile + 0,1% acide formique	
Gradient	Temps (minutes)	% B
	0	20
	15	100
	16	100
	16,1	20
	26	20
Débit	0,2 mL/min	
Volume injecté	50 µL	
Solvant d'injection	Eau / MeOH 50/50	

Le tableau 34 présente les paramètres de l'interface électrospray du spectromètre de masse. Ces paramètres sont communs pour l'ensemble des composés de la méthode et ont été optimisés lors de la phase de développement.

Tableau 34 - Paramètres du spectromètre de masse TSQ Quantum pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Saint-Maurice

Mode d'ionisation	ESI+
Tension du capillaire	3000 V
Température du capillaire	370°C
Pression du « sheath gas »	50
Pression du gaz auxiliaire	20

Dans le tableau 35 figurent les paramètres optimisés du spectromètre de masse spécifiques à chaque composé.

Tableau 35 - Transitions et paramètres associés mis en œuvre pour l'analyse des pesticides, hormones et composés pharmaceutiques sur le site de Saint-Maurice

	Composé	Ion précurseur	Ion produit (quantification)	Energie de collision (eV)	Ion produit (confirmation)	Energie de collision (eV)	Tube lens (V)
PESTICIDES	Atrazine	215,9	173,7	26	103,7	39	93
	Atrazine d5	220,9	178,8	26	-	-	93
	DEA	187,8	145,7	25	42,9	27	91
	DEDIA	145,8	103,7	26	78,8	28	95
	DIA	173,8	103,7	30	95,8	27	96
	DIA d5	178,9	136,8	28	-	-	94
	Diuron	232,8	71,8	23	159,6	35	94
	Diuron d6	238,9	77,9	28	-	-	90
	Hydroxyatrazine	197,9	155,8	25	85,8	31	92
	Métolachlore	283,9	251,8	25	175,8	31	85
COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES	Bézafibrate	362,0	138,9	35	316,0	21	106
	Bézafibrate d6	368,0	138,8	35	-	-	106
	Carbamazépine	237,0	194,0	29	193,0	43	101
	Carbamazépine d10	247,0	204,0	32	-	-	103
	Diclofénac	295,9	213,9	45	214,9	28	92
	Diclofénac d4	299,9	217,8	42	-	-	83
	Sulfaméthoxazole	253,9	107,9	32	155,8	24	91
	Sulfaméthoxazole ¹³ C ₆	259,9	161,8	24	-	-	97
HORMONES	Ethinylœstradiol	279,0	132,8	25	158,8	31	82
	Lévonorgestrel	313,0	108,8	39	244,9	26	104
	Mestranol	293,0	146,8	30	172,8	33	87
	Noréthindrone	299,0	90,8	52	108,8	37	104
	17-alpha-œstradiol	255,0	158,8	29	114,8	52	86
	17-beta-œstradiol	255,0	158,8	29	114,8	52	86
	17-beta-œstradiol d4	259,0	160,8	29	-	-	92
	Œstriol	271,1	132,8	28	156,8	42	78
	Œstrone	271,0	253,0	12	132,9	12	97
	Œstrone d4	275,0	256,9	21	-	-	97
	Progestérone	315,0	96,8	32	108,8	40	104
	Progestérone d9	324,0	99,8	30	-	-	112

	Composé	Ion précurseur	Ion produit (quantification)	Energie de collision (eV)	Ion produit (confirmation)	Energie de collision (eV)	Tube lens (V)
	Testostérone	289,0	96,8	27	108,8	33	105
	Testostérone d3	292,0	96,8	30	-	-	102

Chacune des transitions est scannée successivement pendant 20 ms (« dwell time »).

3.2.2 Méthode analytique pour les composés perfluorés

Le tableau 36 regroupe l'ensemble des conditions chromatographiques pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Saint-Maurice.

Tableau 36 - Conditions chromatographiques pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Saint-Maurice

Colonne	C ₁₈ BDS Hypersil (100 x 2,1 mm, 3 µm)	
Température de la colonne	35°C	
Phases mobiles	A : Eau + 0,1% acide formique B : Acétonitrile + 0,1% acide formique	
Gradient	Temps (minutes)	% B
	0	20
	15	100
	16	100
	16,1	20
	26	20
Débit	0,2 mL/min	
Volume injecté	50 µL	
Solvant d'injection	Eau / MeOH 50/50	

Le tableau 37 présente les paramètres de l'interface électrospray du spectromètre de masse. Ces paramètres sont communs pour l'ensemble des composés de la méthode et ont été optimisés lors de la phase de développement.

Tableau 37 - Paramètres du spectromètre de masse TSQ Quantum pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Saint-Maurice

Mode d'ionisation	ESI-
Tension du capillaire	3000 V
Température du capillaire	370°C
Pression du « sheath gas »	50
Pression du gaz auxiliaire	20

Dans le tableau 38 figurent les paramètres optimisés du spectromètre de masse spécifiques à chaque composé.

Tableau 38 - Transitions et paramètres associés mis en œuvre pour l'analyse des composés perfluorés sur le site de Saint-Maurice

Composé	Ions précurseurs	Ions produits quantification confirmation	Energie de collision (eV)	Tube lens (V)
PFOA	368,8	168,8	21	76
	412,7	368,8	20	
13C4-PFOA	416,8	371,8	21	92

Composé	Ions précurseurs	Ions produits quantification confirmation	Energie de collision (eV)	Tube lens (V)
PFOS	498,8	79,8	39	115
	498,8	498,8	10	
13C4-PFOS	502,8	79,8	42	124

Chacune des transitions est scannée successivement pendant 30 ms (« dwell time »).

3.2.3 Quantification

Les analytes sont quantifiés grâce à une gamme d'étalonnage à 8 points, à des concentrations comprises entre 5 et 2000 pg/ μ L (concentrations dans le flacon d'injection). Ces concentrations correspondent à des concentrations dans l'échantillon comprises entre 3 ng/L et 1,2 μ g/L respectivement, en prenant l'hypothèse d'une prise d'essai de 500 mL et d'un volume de reprise de 300 μ L. Cette gamme d'étalonnage couvre donc les concentrations classiquement retrouvées dans l'environnement.

Les composés sont quantifiés par étalonnage interne ; les étalons internes sont ajoutés en même quantité dans les échantillons et les points de gamme.

Les quantifications ont été menées avec le logiciel XCalibur (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) sur le module LCQuan. La droite d'étalonnage a été tracée en mode quadratique, en ne forçant pas la régression par l'origine, et en pondérant en 1/x. La pondération en 1/x permet de donner plus de poids aux basses concentrations, alors qu'en ne pondérant pas, ce sont les concentrations les plus hautes qui dirigent la droite de régression.

3.3 Validation des méthodes analytiques

Les méthodes analytiques développées sur chaque site ont été validées conformément aux méthodes de travail de chaque laboratoire. Les critères suivants ont été vérifiés :

- Les limites de détection et de quantification (LD et LQ)

Selon la norme NF T90-210, la limite de détection est définie comme la « plus petite quantité ou concentration d'un analyte dans l'échantillon d'essai qui peut être distinguée de manière fiable du zéro ». La limite de quantification de la méthode est la « plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement dans des conditions expérimentales décrites dans la méthode avec une exactitude définie ».

Sur le site de Saint-Maurice, l'approche suivante a été adoptée : seuls les composés présents en quantités telles que le signal produit était compris dans la gamme d'étalonnage ont été quantifiés. La limite de quantification est donc égale à la concentration dans le premier point de la gamme (5 pg/ μ L), soit 250 pg injectés. En prenant l'hypothèse d'une prise d'essai en SPE de 500 mL reconcentrée à 300 μ L, cela équivaut environ à 3 ng/L dans l'échantillon.

Sur le site de Bordeaux, les limites de détection et de quantification ont été estimées à partir du rapport signal / bruit. La limite de détection correspond à un rapport signal / bruit égal à 3 et la limite de quantification correspond à un rapport signal / bruit égal à 10. Pour déterminer les LD et LQ, des dilutions successives d'une solution étalon ont été injectées, et les rapports signal / bruit ont été

déterminés pour chaque composé. Des limites de quantification instrumentales comprises entre 0,5 pg injectés (métochlor) et 78 pg injectés (œstriol) ont été obtenues. Cela équivaut respectivement à 60 pg/L et 10 ng/L dans l'échantillon, en prenant les mêmes hypothèses que précédemment.

- La linéarité

Elle correspond à la proportionnalité entre la quantité d'analyte introduite et le signal produit par le système.

A Bordeaux, une gamme à 5 points aux concentrations comprises entre 20 et 500 pg/μL a été analysée. Le coefficient de corrélation de la droite de régression a été utilisé pour valider la linéarité de la méthode.

A Saint-Maurice, une gamme à 8 points aux concentrations comprises entre 5 et 2000 pg/μL a été analysée. Lors de la quantification sur le logiciel XCalibur (Thermo), l'écart entre les concentrations recalculées à partir de la droite d'étalonnage et les concentrations réelles des points de gamme était indiqué par le logiciel. Ces résidus, exprimés en pourcentage, donnent une bonne indication de la linéarité. Une tolérance de 10 à 20% sur chaque point de la gamme a été considérée comme acceptable.

- La précision ou fidélité

Il s'agit de l'étroitesse d'accord entre des résultats de tests indépendants obtenus dans des conditions stipulées (définition de la décision 2002/657/CE et de la norme NF T90-210). La répétabilité a été étudiée en adoptant des conditions opératoires identiques montrant la variabilité intra-jour, et la reproductibilité en conditions opératoires différentes (date) montrant la variabilité inter-jour.

- Sur les deux sites, plusieurs injections successives de la même solution étalon au cours d'une même séquence ont été réalisées, fournissant ainsi des données de répétabilité. A titre d'exemple, sur le site de Bordeaux, des coefficients de variation (écart-type / moyenne * 100) compris entre 1 et 6 % ont été obtenus pour cinq injections successives d'une solution standard d'hormones à 500 pg/μL. La répétabilité a donc été considérée comme validée.
- Un suivi des solutions étalon au cours du temps a également été mis en place sous forme de carte de contrôle et permet à la fois de documenter la reproductibilité et d'assurer un suivi de l'appareil. La variabilité des rapports des aires des composés natifs sur les aires des étalons internes donne une bonne indication de la reproductibilité de la méthode d'analyse. A titre d'exemple, sur le site de Saint-Maurice, un suivi sur trois mois pour un point situé en milieu de gamme a montré une variabilité comprise entre 1 et 20% (n = 4) pour tous les composés analysés en mode positif, sauf pour l'œstriol (32%).

- La justesse

Elle correspond à l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essai et une valeur de référence acceptée (définition de la décision 2002/657/CE et de la norme NF T90-210).

Lors de chaque extraction d'eau ou de POCIS, un échantillon est « dopé » et suit l'ensemble du protocole d'extraction puis d'analyse. Pour une extraction d'eau, c'est de l'eau minérale qui est supplémentée avec une quantité connue d'analytes et pour une extraction de POCIS c'est de la phase Oasis HLB. Un rendement d'extraction est alors calculé en comparant les quantités retrouvées et celles

initialement introduites. Ce rendement doit être très proche de 100%, idéalement compris entre 80 et 120%, avec une tolérance plus importante pour les composés présentant un comportement particulier lors de l'extraction et qui ne possèdent pas leur propre analogue isotopique (DEDIA par exemple).

Les performances des méthodes analytiques se sont donc avérées satisfaisantes dans le cadre de ce travail. Elles sont en adéquation avec les applications envisagées.

3.4 Contrôles qualité lors des extractions et des analyses

Afin de vérifier qu'aucune contamination croisée n'a lieu entre les échantillons, des « blancs d'injection » (méthanol) ont été injectés très régulièrement au cours de chaque séquence.

Un « blanc protocole » a été réalisé à chaque extraction d'eau ou de POCIS. Ce blanc protocole n'est pas censé contenir les analytes et permet de rendre compte de contaminations éventuelles apportées par le matériel, le manipulateur ou encore l'ambiance de la pièce de manipulation. Pour une extraction d'eau, les étalons internes sont ajoutés directement sur la cartouche SPE conditionnée. Pour les extractions de POCIS, un « blanc ambiant » est extrait ; il s'agit d'un POCIS préparé de la même manière que les POCIS ayant servi à l'essai, exposé à proximité des autres POCIS durant l'essai, puis transporté, stocké et extrait comme les autres POCIS.

De plus, les rendements d'extraction sont systématiquement vérifiés grâce à l'échantillon dopé (cf. paragraphe 3.3).

Enfin, une solution étalon est régulièrement injectée en cours de séquence pour s'assurer qu'aucune dérive instrumentale majeure n'a lieu au cours de l'analyse.

4. Préparation, montage et mise en cartouche des POCIS

Le nettoyage des éléments du POCIS, et leur montage, ont été réalisés conformément aux lignes directrices de la norme ISO 5667-23.

4.1 Préparation de la phase adsorbante et des membranes

Avant de préparer les POCIS, des étapes de nettoyage de la phase et des membranes sont effectuées afin de s'affranchir de toute contamination éventuelle.

La phase Oasis HLB en vrac, ainsi que toutes les autres phases solides testées dans le cadre de ces travaux, subissent trois rinçages successifs au méthanol. Lors de chaque rinçage, la phase est laissée au contact du méthanol pendant 20 minutes, qui est ensuite éliminé sous vide.

Trois types de membranes ont été utilisés lors des différents essais : des membranes en polyéthersulfone (PES), des membranes en Nylon et des membranes en polycarbonate (PC). Comme la phase, les membranes ont été rincées trois fois avec du méthanol pendant 20 minutes. Elles sont ensuite mises à sécher sur du papier aluminium sous hotte pendant plusieurs heures jusqu'à complète évaporation du solvant.

A la fin du séchage, un contrôle gravimétrique a permis de s'assurer de l'absence de résidus de solvant pour la phase Oasis HLB et pour les membranes.

4.2 Montage des POCIS

Les principales étapes de la préparation des POCIS sont les suivantes (Figure 26) :

1. Placer sur une balance un disque Inox et une membrane en PES, faire la tare.
2. Ajouter 200 mg (± 5 mg) de phase HLB (Figure 26a). A ce niveau, la masse exacte de phase introduite n'a pas besoin d'être connue. C'est la masse effectivement récupérée après exposition qui sera utilisée pour l'exploitation des résultats.
3. Placer la seconde membrane sur la phase puis le second disque en Inox (Figure 26b).

Les POCIS sont ensuite fermés grâce à des vis et des écrous en Inox (Figure 26c). Ils sont emballés individuellement dans du papier aluminium et dans un sac de congélation hermétiquement fermé. Les POCIS peuvent être stockés à température ambiante jusqu'à utilisation.

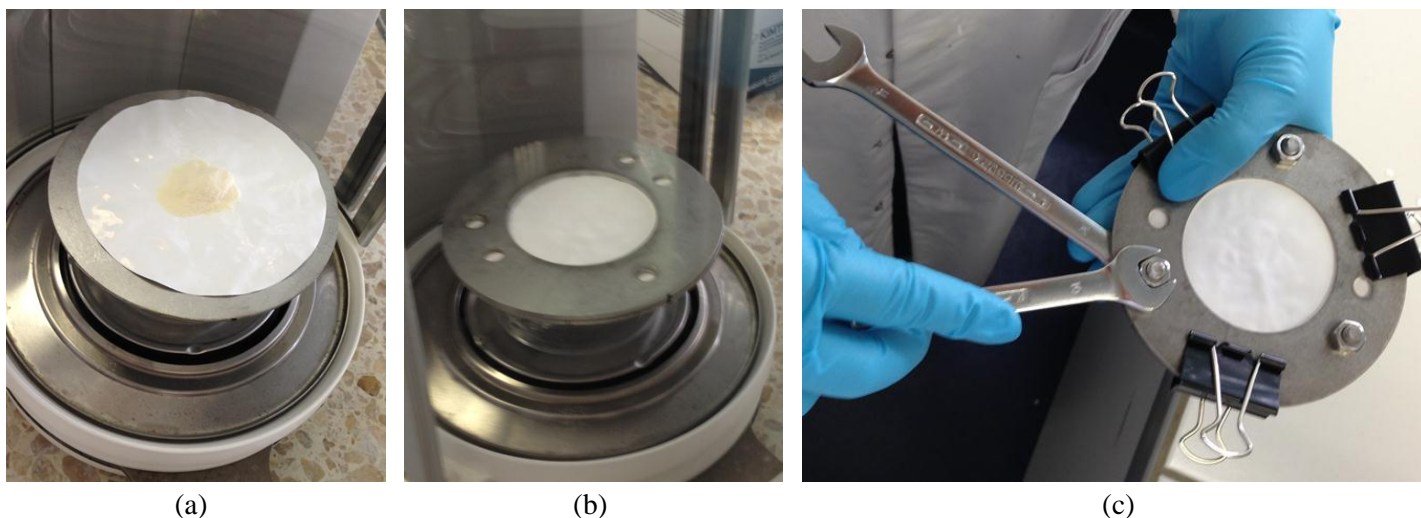


Figure 26 - Etapes de préparation d'un POCIS

De gauche à droite : (a) pesée de la phase Oasis HLB, (b) ajout de la seconde membrane PES et du disque en Inox, (c) fermeture avec des vis et des écrous.

4.3 Mise en cartouche

Après exposition dans le milieu, les POCIS sont démontés et la phase réceptrice est transférée dans une cartouche SPE vide. Des cartouches en verre munies d'un fritté en téflon sont utilisées pour les essais n'impliquant pas les composés perfluorés. Lors de calibrations incluant les composés perfluorés et pour les expositions dans l'environnement, ce sont des cartouches en polypropylène munies d'un fritté en polyéthylène qui ont été employées. Les deux types de frittés ont subi au préalable trois nettoyages successifs de vingt minutes au méthanol suivis d'un séchage une nuit sous hotte.

La phase réceptrice du POCIS est transférée dans la cartouche SPE suivant le protocole suivant :

1. Ouverture du POCIS
2. Transfert de la phase réceptrice à l'aide d'un entonnoir en verre et de quelques millilitres d'eau minérale
3. Ajout du second fritté sur la phase
4. Séchage sous vide ou sous flux d'azote pendant environ une heure

Le séchage est considéré comme complet lorsque la phase réceptrice a un aspect sablonneux et que la masse de la cartouche ne varie plus.

La masse de phase effectivement récupérée est obtenue par pesée différentielle entre la cartouche vide (avec ses deux frittés) et la cartouche contenant la phase HLB après séchage.

5. Méthodes d'extraction

5.1 Développement et validation du protocole d'extraction d'échantillons d'eau

Les échantillons d'eau sont extraits sur phase solide (*Solid Phase Extraction*, SPE). Cette technique repose sur la distribution des composés d'intérêt entre la phase liquide (échantillon) et la phase solide (adsorbant). L'échantillon est percolé sur la phase solide, généralement contenue entre deux frittés, sous forme de cartouche. Les analytes sont retenus sur la phase solide. Après séchage de la cartouche, les composés sont élués grâce à un solvant ou un mélange de solvants. Ainsi, l'échantillon est concentré dans quelques millilitres de solvant, ce qui permet de détecter au moment de l'analyse des composés présents en très faible concentration initialement. Toutefois, certains composés polaires ont une affinité relativement importante pour la phase aqueuse et ne sont plus retenus au-delà d'un certain volume d'eau percolé. Ce volume s'appelle le volume de fuite (ou de percée) et est spécifique à chaque composé et à chaque phase solide.

L'extraction a été développée sur des cartouches Oasis HLB 6 cc, 200 mg, par analogie avec la phase réceptrice des POCIS.

Le protocole développé est le suivant :

- Conditionnement : 5 mL de méthanol puis 5 mL d'eau minérale
- Percolation en réglant le vide pour avoir un goutte-à-goutte
- Séchage soit sous vide (site de Bordeaux) soit sous azote (site de Saint-Maurice)
- Elution : 5 mL MeOH – 5 mL MeOH/DCM (50/50) – 5 mL DCM

C'est le mélange de solvants utilisé pour l'élution de la phase réceptrice des POCIS qui a également été employé pour l'élution des cartouches SPE (voir développement en paragraphe 5.2).

Les extraits ont ensuite été évaporés à sec sous flux d'azote et repris dans 150 µL de méthanol et 150 µL d'eau HPLC.

Dans un premier temps, afin de valider ce protocole et d'évaluer le volume de fuite des composés étudiés, des volumes croissants : 20 mL – 100 mL – 200 mL – 500 mL d'eau minérale ont été dopés avec 10 ng de composés puis extraits selon le protocole décrit ci-dessus. En parallèle, trois

échantillons de référence ont été réalisés en dopant les 15 mL de solvant d'élution avec les composés d'intérêt. Ces échantillons ont ensuite suivi tout le protocole d'évaporation, de reprise et d'analyse. Chacun a été injecté trois fois. Une bonne répétabilité d'injection (moins de 15% de variation des aires) et de préparation (moins de 22% de variation des aires) entre les trois échantillons de référence a été constatée. L'aire moyenne de ces points de référence a été utilisée pour le calcul du rendement des points extraits (Figure 27).

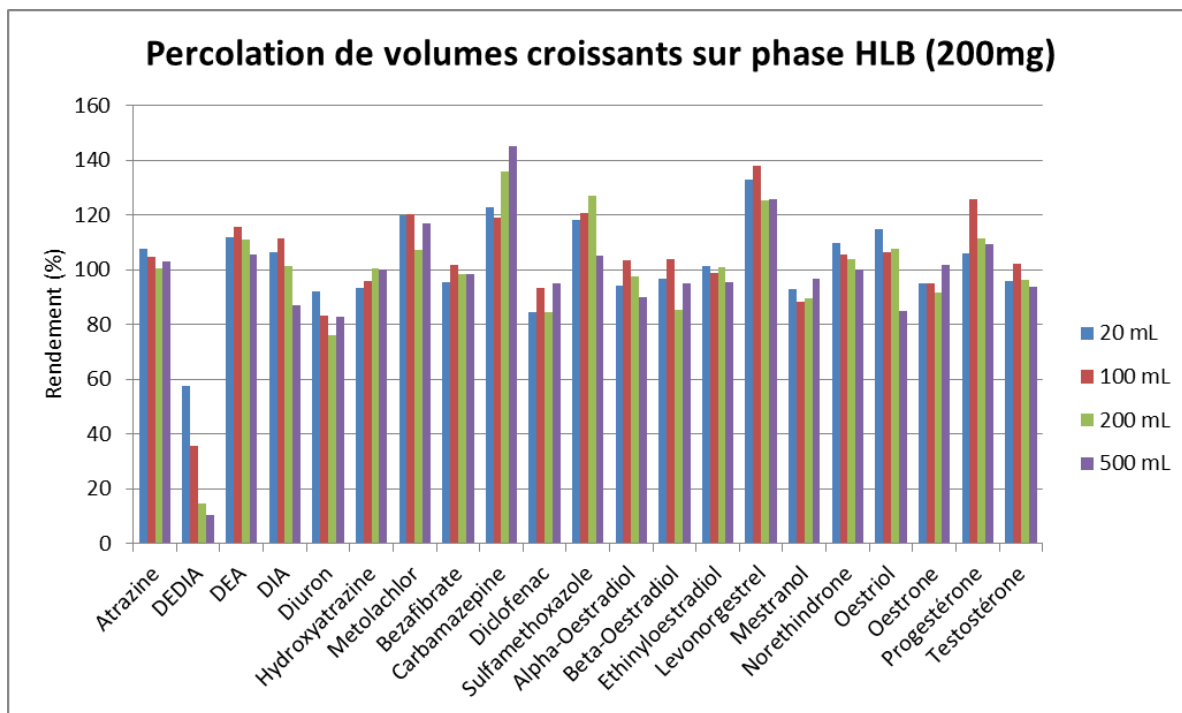


Figure 27 - Rendements d'extraction obtenus sur phase Oasis HLB (200 mg) avec des volumes croissants d'eau dopée (n = 1)

Pour tous les composés hormis la DEDIA, les rendements d'extraction sont supérieurs à 75%, quel que soit le volume d'eau percolé.

Seule la DEDIA présente un volume de fuite très faible. Avec seulement 20 mL percolés, le rendement d'extraction est autour de 60% et à partir de 200 mL, le rendement devient inférieur à 20%. Ce composé est en fait très polaire avec un $\log K_{ow}$ proche de zéro, ce qui explique sa forte affinité pour la phase aqueuse et sa faible rétention sur la phase Oasis HLB.

Dans un second temps, ce protocole d'extraction a été testé en triplicat pour les composés perfluorés avec 50 mL d'eau dopée à 100 ng/L. Le rendement du PFOA était de 100 ± 11 % et celui du PFOS de 102 ± 5 % (n = 3). De plus, lors de chaque extraction d'échantillons environnementaux, 500 mL d'eau dopée à 50 ng/L ont été extraits pour vérifier les rendements d'extractions. Dans ce cas de figure, les étalons internes ont été ajoutés en début de protocole, corrigeant les éventuelles pertes lors de la percolation. Il est donc plus pertinent de comparer directement les aires de ces étalons internes ayant subi la percolation, aux aires de ces mêmes EI dans la gamme (ajoutés en même quantité). Ces deux types d'aires se sont avérées très proches (moins de 30% de différence), indiquant l'absence de volume de fuite jusqu'à 500 mL pour les composés perfluorés.

Le protocole retenu pour l'extraction des échantillons d'eau est donc le suivant :

Extraction des échantillons d'eau sur cartouche Oasis HLB (200 mg, 6 mL) :

- Conditionnement : 5 mL de méthanol puis 5 mL d'eau minérale
- Ajout des étalons internes dans les échantillons
- Percolation au goutte-à-goutte
- Séchage des cartouches (soit sous vide soit sous azote)
- Elution avec 5 mL MeOH – 5 mL MeOH/DCM (50/50) – 5 mL DCM
- Evaporation à sec sous flux d'azote
- Reprise de l'extrait dans 150 µL de méthanol et 150 µL d'eau HPLC

5.2 Développement et validation du protocole d'extraction de la phase réceptrice du POCIS

Dans la littérature, les POCIS de configuration « Pharm » sont classiquement extraits avec du méthanol (Morin et al. 2012). Comme la liste de composés étudiés inclut plusieurs hormones relativement apolaires, l'ajout de DCM a été testé, d'autant plus qu'il permet, en mélange avec le méthanol, d'extraire des familles de composés très variées et notamment les pesticides, les hormones et les composés pharmaceutiques (Tapie et al. 2011).

Les volumes et mélanges de solvants suivants ont donc été testés :

- Mélange 1 : 5 mL MeOH, 5 mL MeOH/DCM (50/50), 5 mL DCM
- Mélange 2 : 15 mL MeOH/DCM (50/50)
- Mélange 3 : 10 mL MeOH, 10 mL MeOH/DCM (50/50), 5 mL DCM

Pour cela, 200 mg de phase Oasis HLB ont été introduits dans des cartouches SPE en verre. La phase a été dopée avec 200 ng de composés pharmaceutiques et hormones à partir d'une solution étalon à 5 µg/mL. Après quelques minutes pour que le solvant soit évaporé, un second fritté a été déposé au-dessus de la phase et les trois mélanges de solvants mentionnés ci-dessus ont été utilisés pour éluer les cartouches.

Les extraits ont ensuite été dopés en étalons internes et analysés. Un rendement d'extraction a été estimé en divisant la quantité obtenue lors de l'analyse par la quantité théoriquement ajoutée.

A titre d'exemple, les rendements obtenus pour les hormones avec les trois protocoles sont présentés sur la figure 28.

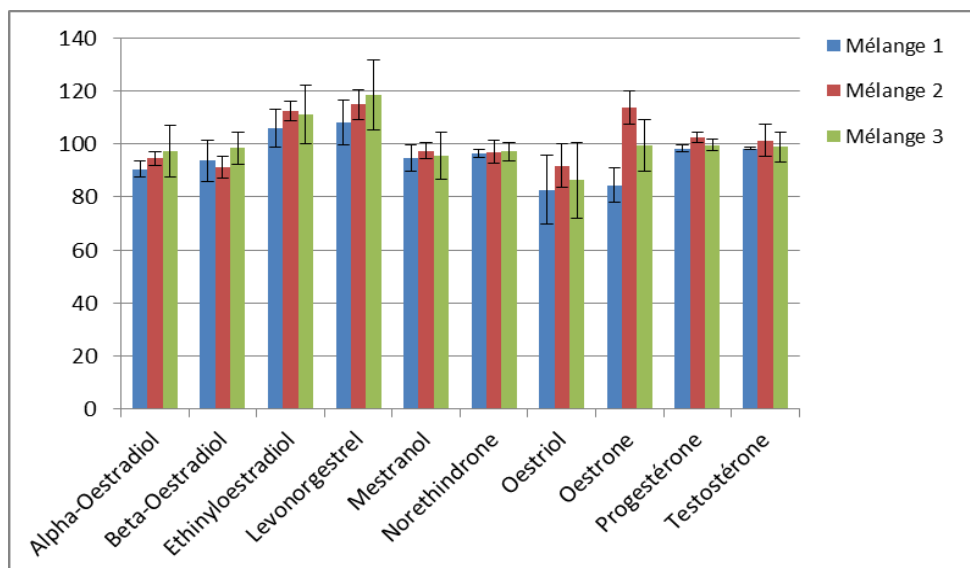


Figure 28 - Rendements d'extraction obtenus pour les hormones après élution de la phase HLB avec les 3 mélanges de solvants (moyenne \pm écart-type, n = 3)

Les protocoles conduisent à des résultats similaires et satisfaisants (rendements d'extraction compris entre 80 et 120%). Ils permettent tous les trois d'extraire de manière quantitative les hormones. Des résultats similaires ont été obtenus pour les composés pharmaceutiques. C'est le mélange n°1 qui a finalement été retenu car il permet par rapport au mélange n°3 de limiter le volume de solvant utilisé, et la durée de l'étape d'évaporation. Par rapport au mélange n°2, il permet de conserver une polarité du solvant d'élution variable et donc une extension quantitative plus probable du mode opératoire aux pesticides et aux composés perfluorés.

Par la suite, ce protocole a été testé avec les pesticides et les composés perfluorés et s'est avéré tout aussi performant. Des rendements d'extraction compris entre 90 et 134% pour les pesticides, et entre 90 et 120% pour les composés perfluorés ont été obtenus.

Le protocole retenu pour l'extraction de la phase réceptrice des POCIS est donc le suivant :

Extraction des POCIS :

- Transfert de la phase Oasis HLB dans une cartouche équipée d'un fritté
- Séchage des cartouches (soit sous vide soit sous azote)
- Elution avec 5 mL MeOH – 5 mL MeOH/DCM (50/50) – 5 mL DCM
- Aliquotage de l'extrait (éventuellement)
- Ajout des étalons internes dans l'extrait
- Evaporation à sec sous flux d'azote
- Reprise de l'extrait dans 150 μ L de méthanol et 150 μ L d'eau HPLC

5.3 Tests de rinçage

Dans les cas d'échantillons relativement chargés comme en sortie de STEP par exemple, un effet de matrice important peut être observé sur certains composés. L'effet de matrice est dû à la présence dans l'échantillon de matière organique (acides humiques...). Cela se traduit généralement par une extinction du signal analytique, qui peut être imputable à :

- L'ionisation des composés de la matrice qui provoque une augmentation de la ligne de base, qui masque par conséquent les composés ciblés.
- L'ionisation compétitive entre les analytes et les interférents dans la source, réduisant l'efficacité d'ionisation des analytes.

Il est possible de limiter ces effets de matrice en appliquant une méthode d'extraction sélective et en y incluant une étape de purification, ou encore en diluant l'extrait final.

Une fois l'échantillon chargé sur la phase HLB (soit lors d'une SPE soit lors d'une extraction de POCIS), il peut donc être judicieux de laver la cartouche contenant la phase HLB pour éliminer les interférents avant l'élution. Par contre, il convient de s'assurer qu'aucun analyte d'intérêt n'est entraîné lors de cette étape. En testant différentes compositions de solvants de rinçage sur de la phase dopée, il est possible de mettre en évidence une désorption des composés dans certaines conditions et donc d'affiner la préparation d'échantillon pour en augmenter la sélectivité.

Pour cet essai, des cartouches Oasis HLB commerciales (200 mg, 6 mL) ont été utilisées. 50 mL d'eau Vittel dopée à 1 µg/L ont été percolés sur les cartouches pour les charger en composés.

Les différentes conditions de lavage testées sont les suivantes :

- Aucun rinçage
- 5 mL eau Vittel
- 5 mL eau-MeOH (95-5)
- 5 mL eau-MeOH (90-10)
- 5 mL eau-MeOH (80-20)
- 5 mL eau-MeOH (70-30)

Les cartouches sont ensuite séchées et éluées suivant le protocole présenté précédemment (paragraphe 5.1). Les étalons internes ont été ajoutés volontairement dans les extraits, de manière à obtenir des rendements d'extraction non corrigés par les éventuelles pertes lors de la percolation, du rinçage ou de l'élution. A titre d'exemple, les rendements obtenus pour les composés pharmaceutiques, calculés en divisant la quantité obtenue lors de l'analyse par la quantité théoriquement ajoutée, sont présentés sur la figure 29.

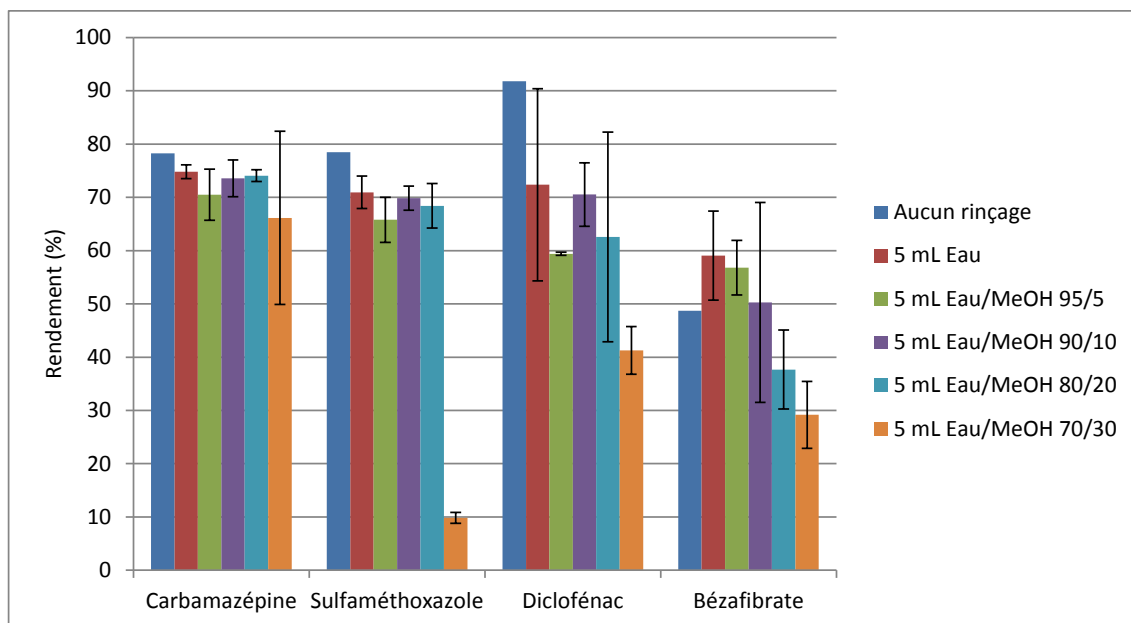


Figure 29 - Effet du rinçage de la phase Oasis HLB sur le rendement d'extraction des composés pharmaceutiques

A partir de 30% de méthanol dans le mélange de solvants de rinçage, une perte importante en sulfaméthoxazole est observée. Le même type de rinçage conduit à une perte complète de la DEDIA qui n'est plus détectable. Par conséquent, si un rinçage de la phase Oasis HLB s'avère nécessaire, il faudra que le mélange de solvants de lavage contienne au maximum 20% de méthanol.

5.4 Développement du protocole d'extraction des membranes du POCIS

Afin de tenter de mieux comprendre les phénomènes de transfert à travers la membrane des POCIS, des extractions des membranes ont été réalisées. Il a tout d'abord fallu développer un protocole d'extraction par solvant. Dans cette optique, plusieurs solvants d'extraction ont été envisagés : le méthanol, l'acétonitrile, le cyclohexane et le dichlorométhane.

5.4.1 Vérification de la compatibilité chimique avec les membranes

Dans un premier temps, la compatibilité chimique des solvants avec les membranes a été évaluée car certains solvants sont susceptibles de dissoudre le polymère constitutif de la membrane. Les membranes en PES, en Nylon et en PC ont simplement été mises en présence de ces solvants.

Le méthanol étant couramment employé pour nettoyer les membranes, sa compatibilité avec ces dernières n'était plus à prouver. Ce solvant n'a donc pas subi la phase de pré-test.

L'acétonitrile est à exclure car il provoque une modification complète de la structure de la membrane en PC (rétractation, cf. figure 30).

Le dichlorométhane ne peut pas être retenu car il dissout les membranes en PES.

Les solvants retenus pour réaliser les tests d'extraction sont donc le méthanol et le cyclohexane. En outre, les polarités respectives de ces deux solvants permettent d'envisager deux extractions successives, complémentaires en termes de composés extraits. Les composés les plus polaires et moyennement polaires sont probablement extraits par le méthanol alors que ceux moins polaires sont extraits préférentiellement par le cyclohexane.

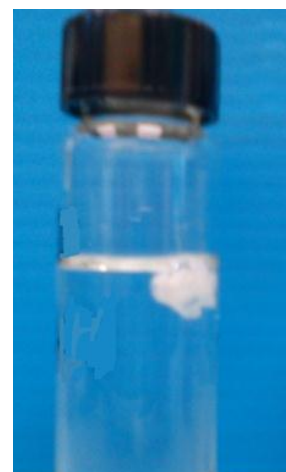


Figure 30 - Membrane en polycarbonate en présence d'acétonitrile

5.4.2 Optimisation du protocole d'extraction

Dans un second temps, des essais d'enrichissement puis d'extraction des membranes ont été menés. Trois bouteilles en verre de 500 mL ont été remplies avec de l'eau du réseau déchlorée (ajout de 20 mg/L de thiosulfate de sodium) puis dopée en composés d'intérêt à 1 µg/L. Trois membranes de chaque type (PES, Nylon et PC) y ont ensuite été immergées, chaque bouteille contenait donc un type de membrane en triplicat. Les bouteilles ont été stockées à température ambiante, à l'abri de la lumière. Cette exposition simulait une configuration classiquement adoptée lors d'une calibration de POCIS. Cette étape avait pour but d'enrichir les membranes en molécules organiques de manière plus représentative qu'un simple dopage à partir d'une solution contenant les composés. Comme la quantité de composés effectivement retenue par les membranes ne pouvait pas être connue, aucun rendement d'extraction n'a pu être déterminé. Les résultats ont simplement été exprimés en quantité de composés (ng) extraits de la membrane.

Après une semaine, les membranes ont été retirées de l'eau dopée et laissées à sécher sous hotte durant quelques heures.

Ensuite, elles ont été placées individuellement dans des flacons en verre de 22 mL. 20 mL de MeOH y ont été ajoutés, les membranes ont été extraites pendant 20 minutes aux ultrasons. Les membranes ont ensuite été retirées des flacons et laissées à sécher sous hotte pendant environ 30 minutes. Le méthanol et le cyclohexane n'étant pas miscibles, cette étape a évité d'avoir des traces de méthanol dans le cyclohexane. Après séchage, les membranes ont été introduites dans un second flacon et 20 mL de cyclohexane y ont été ajoutés. Les membranes ont été extraites pendant 20 minutes aux ultrasons.

Pour chaque membrane, une première fraction dans le MeOH et une seconde dans le cyclohexane ont donc été obtenues.

Tous les extraits ont été dopés en étalons internes avant d'être évaporés sous flux d'azote puis repris comme les extraits de POCIS.

Pour l'ensemble des membranes, il s'est avéré que l'extrait dans le cyclohexane ne contenait que très peu de composés. Parmi les composés ciblés, seuls certains composés relativement hydrophobes (progestérone, lévonorgestrel, noréthindrone, mestranol, métolachlore) sont présents, en quantités très faibles. A titre d'exemple, les quantités accumulées dans les membranes en PES sont présentées sur la figure 31.

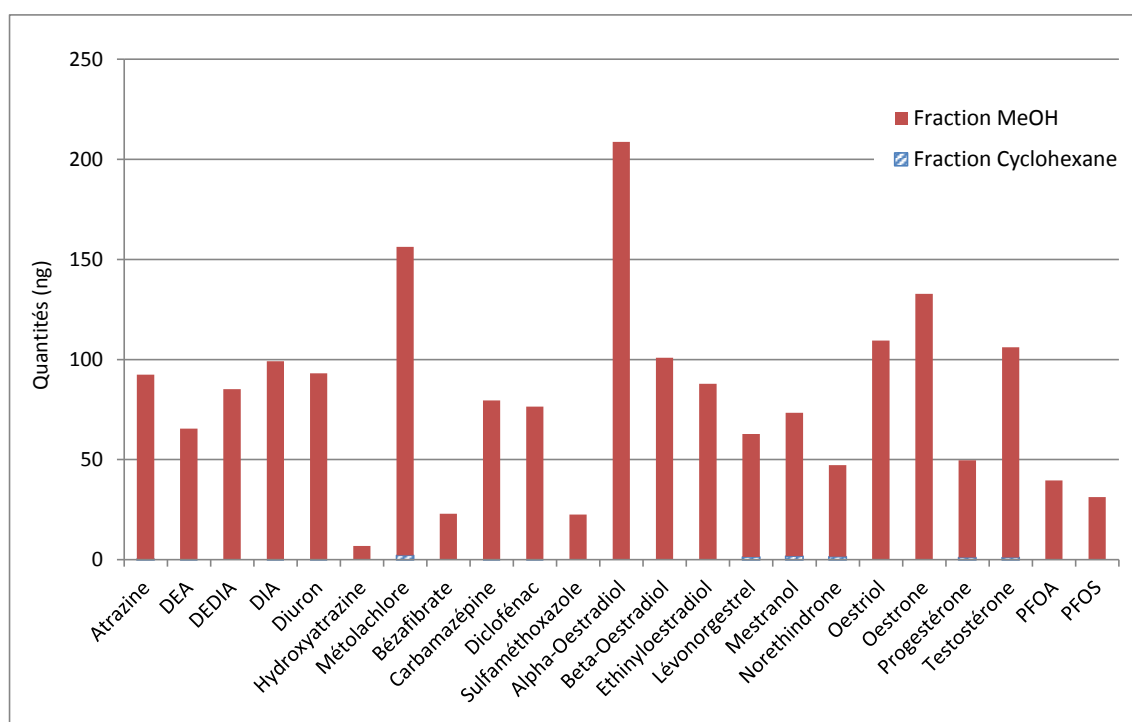


Figure 31 - Quantités accumulées dans les membranes en PES après une semaine d'exposition dans une eau dopée à 1 µg/L

Les quantités extraites par la fraction de cyclohexane ne sont pas significatives, elles ne représentent au maximum que 3,5% de la quantité extraite par le méthanol. Il ne semble donc pas pertinent de conserver l'étape d'extraction au cyclohexane.

Il ressort également de ces résultats que les quantités accumulées par la membrane sont variables en fonction des composés. Les molécules ciblées sont très diverses, aussi bien en termes de polarité, que de structure ou encore de groupements fonctionnels. Cette diversité se traduit par une affinité

variable pour la membrane en PES. Les quantités accumulées sont aussi fonction du type de membrane car quel que soit le composé, la quantité présente dans la membrane PES est supérieure à celle dans la membrane Nylon, elle-même supérieure à celle dans la membrane PC.

Le protocole retenu pour l'extraction des membranes est donc le suivant :

Extraction des membranes de POCIS :

- Ajout de 20 mL de méthanol
- Passage pendant 20 minutes aux ultrasons
- Retrait de la membrane
- Ajout des étalons internes
- Evaporation à sec sous flux d'azote
- Reprise de l'extrait dans 150 µL de méthanol et 150 µL d'eau HPLC

6. Systèmes de calibration utilisés

Parmi tous les systèmes de calibration envisageables, le choix a été fait de travailler en flux continu. En effet, cette approche permet de conserver des concentrations dans l'eau quasiment constantes, ce qui rend l'exploitation des résultats plus directe tout en étant représentatif du milieu.

Différents systèmes de complexité croissante ont été mis en œuvre. Des calibrations ont été conduites au laboratoire, dans des aquariums d'une trentaine de litre alimentés par de l'eau du robinet. Un pilote a ensuite été mis en place pour réaliser des calibrations en matrice réelle. Ces deux dispositifs comportaient chacun deux récipients semblables. De cette façon, deux conditions expérimentales ont pu être testées en parallèle lors de chaque calibration. Enfin, des calibrations ont été réalisées directement sur site, en sortie de STEP et en rivière.

6.1 Préparation des solutions de dopage (calibrations en laboratoire et sur pilote)

Lors de chaque calibration en laboratoire et sur pilote, une solution mère comportant l'ensemble des composés étudiés est préparée dans le méthanol à partir des composés étalon (poudres ou liquides visqueux). Les fournisseurs et la pureté de ces étalons figurent dans le tableau 23. La concentration de cette solution mère est d'environ 20 mg/L.

A partir de cette solution mère sont préparées des solutions filles, diluées au 1/100^{ème}. Le nombre de solutions filles préparées est égal au nombre de jours que dure la calibration. Toutes ces solutions sont conservées à -20°C. Chaque jour, une nouvelle bouteille de solution fille est décongelée, assurant ainsi un renouvellement quotidien de la solution de dopage. Cette approche permet de garantir la stabilité de la solution de dopage au cours de l'essai.

6.2 Système de calibration utilisé au laboratoire

Le système de calibration utilisé au laboratoire comprend deux récipients en verre de 27 litres, de dimensions : largeur 30 cm / longueur 30 cm / hauteur 30 cm. Ces récipients sont alimentés en continu en eau par une pompe péristaltique P1 et l'eau est ensuite évacuée via les surverses vers un filtre à charbon actif. Avant d'être injectée dans les récipients d'exposition, l'eau du réseau est déchlorée grâce à l'ajout de thiosulfate de sodium à la concentration de 20 mg/L (Norme NF T90-401). Cette étape vise à limiter les risques de dégradation des composés organiques par le chlore présent dans l'eau distribuée.

Les récipients d'exposition sont également alimentés en continu en solution méthanolique par une pompe péristaltique P2. Les débits respectifs des deux pompes ainsi que le code couleur des tuyaux employés figurent dans le tableau 39. Le débit d'eau adopté (environ 9 litres/jour) permet d'assurer un taux de renouvellement du milieu d'exposition des POCIS suffisant, d'environ un tiers chaque jour. D'autre part, il convient de s'assurer que ce débit est supérieur au taux d'échantillonnage d'un POCIS multiplié par le nombre de POCIS dans le récipient (Booij et al. 2007).

$$Q \gg R_s n$$

Equation 18

Avec :
 Q : Débit d'eau alimentant le récipient (L/jour)
 R_s : Taux d'échantillonnage moyen d'un POCIS (L/jour)
 n : Nombre de POCIS immergés dans le milieu d'exposition

Dans le cas présent, avec un taux d'échantillonnage moyen pris à environ 0,2 L/jour et un nombre de POCIS égal à neuf, cette condition est respectée.

Enfin, la quantité de méthanol dans les bacs d'exposition doit être la plus faible possible afin de ne pas modifier le comportement des composés organiques entre l'eau et les POCIS. Dans le cas présent, elle est inférieure à 1% ce qui a été considéré comme satisfaisant.

Le milieu d'exposition est agité à 45 tours par minute par une pale montée sur un moteur d'agitation RZR1.

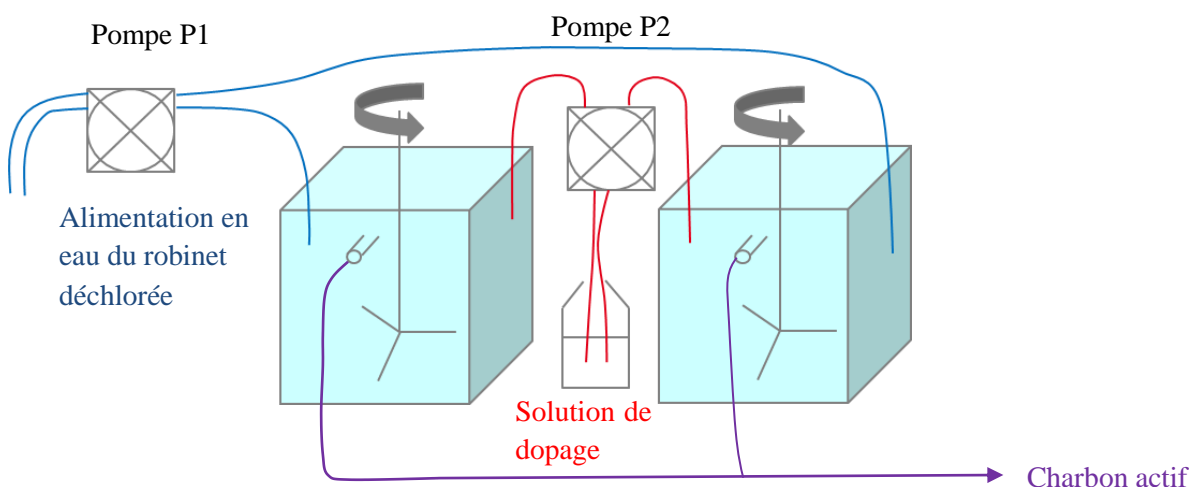


Figure 32 - Schéma du système de calibration utilisé au laboratoire

Tableau 39 - Débits des deux pompes péristaltiques utilisées pour les calibrations en laboratoire

	Débit sélectionné sur la pompe	Tuyaux utilisés	Débit moyen délivré par récipient
Pompe P1 - Ismatec	Fixe (20 tr/min)	Tygon® R3607 noir/blanc 3 cavaliers 3,17 mm de diamètre interne	9 litres/jour
Pompe P2 - Ismatec	10 tr/min	Tygon® F4040 orange/bleu 3 cavaliers 0,25 mm de diamètre interne	80 mL/jour

Les POCIS ont été placés sur des holders. Neuf POCIS ont été immergés dans chaque bac, permettant d'obtenir des triplicats.

Les deux récipients d'exposition, avec les moteurs d'agitation et la bouteille contenant la solution de dopage, sont présentés sur la figure 33.



Figure 33 - Photo du système de calibration utilisé au laboratoire

Ce dispositif a été utilisé pour les calibrations en laboratoire (LPTC à Bordeaux).

6.3 Système de calibration à l'échelle pilote

Le dispositif utilisé à l'échelle pilote était constitué de deux récipients en PVC de 193 litres, de dimensions : largeur 50 cm / longueur 50 cm / hauteur 80 cm. Les deux récipients étaient alimentés en continu en eau par deux pompes péristaltiques P3, et l'eau dopée était évacuée via des surverses vers un filtre à charbon actif.

Les bacs d'exposition étaient également alimentés en continu en solution méthanolique par une pompe péristaltique Minipuls 3 notée P4. Les débits respectifs des deux pompes ainsi que les spécifications des tuyaux employés, figurent dans le tableau 40.

Le schéma général du dispositif de calibration est détaillé sur la figure 34.

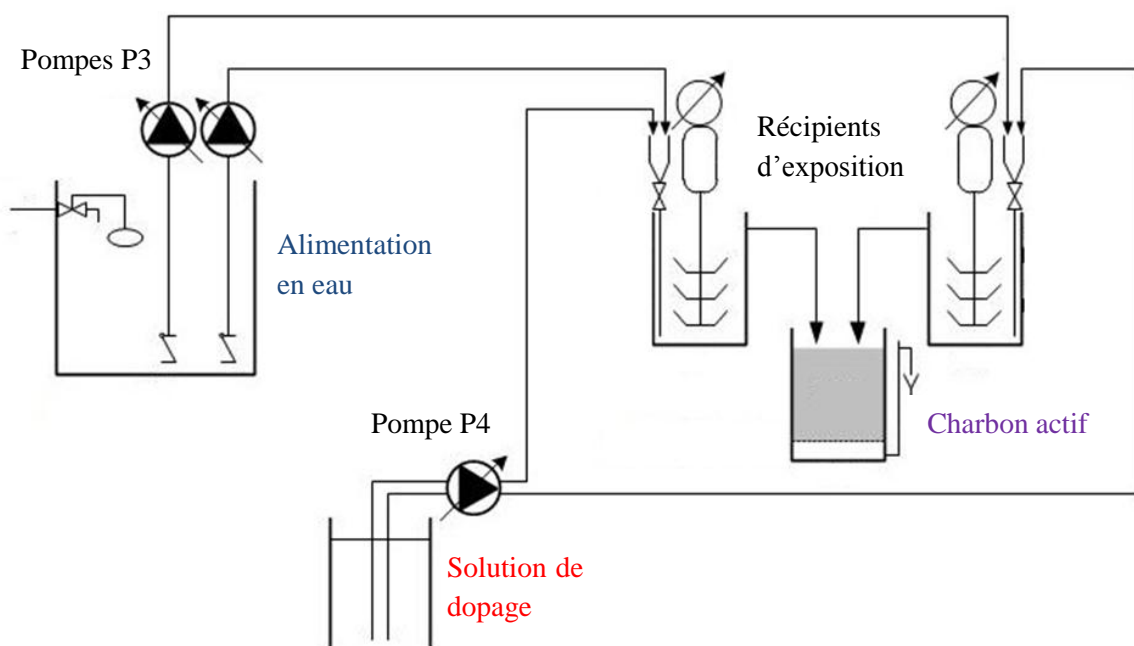


Figure 34 - Schéma du dispositif de calibration à l'échelle pilote

Tableau 40 - Débits des deux pompes péristaltiques utilisées sur le dispositif pilote

Tuyaux utilisés		Débit moyen délivré par bac
Pompe P3 - Seko	-	70 L/jour
Pompe P4 - Gilson Minipuls 3	Gilson PVC orange/jaune 3 cavaliers 0,5 mm de diamètre interne	250 mL/jour

Le milieu d'exposition était agité grâce à un moteur MDP. Ce moteur a été équipé d'un variateur de fréquence afin de pouvoir modifier la vitesse d'agitation. Trois holders ont été fixés sur l'axe du moteur (Figure 35) en conservant un espacement suffisant (10 cm entre deux holders). Contrairement aux essais de calibration en laboratoire, ce sont les POCIS qui sont cette fois en rotation. Grâce à cette

approche, le flux à la surface des POCIS est plus facilement maîtrisable via la vitesse de rotation des moteurs.

L'eau d'exposition est légèrement entraînée à cause de la rotation des POCIS et des holders. Néanmoins, cet effet d'entraînement est limité par la géométrie à section carrée du bac d'exposition. De plus, les dimensions du bac sont bien supérieures à celles des POCIS et des holders ce qui permet de s'affranchir de tout effet de bord.

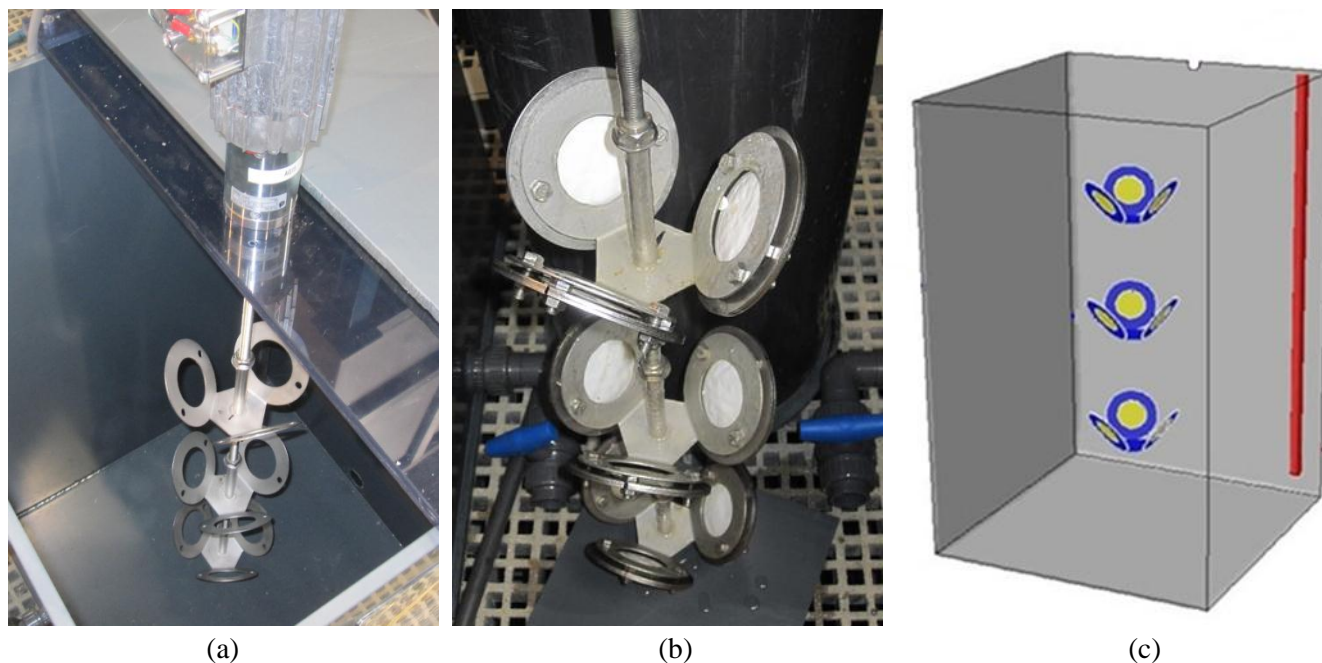


Figure 35 - Dispositif de calibration pilote avec les holders seuls (a), une fois les POCIS installés (b) et en vue globale (c)

Les deux bacs d'exposition étaient munis chacun de deux électrovannes programmables. Ainsi, des prélèvements d'eau ont pu être déclenchés sans intervention directe sur le pilote le week-end (cf. paragraphe 6.4.2).

Lors de la mise en place et de l'exploitation de ce pilote, certaines procédures ont été respectées afin de garantir la sécurité des personnes :

- Signalisation de la zone de travail par un marquage au sol
- Identification de tous les tuyaux et récipients du pilote
- Réalisation d'une évaluation des risques prenant en compte l'ensemble des risques potentiels liés à l'exploitation du pilote (risque chimique, électrisation, risque d'entraînement, chute...)
- Réalisation d'un audit sécurité avec un membre du service HSE (Hygiène Sécurité Environnement) de VERI
- Réalisation d'une visite conditionnant le démarrage du pilote avec un représentant de la direction, un représentant du CHSCT et un membre du service HSE de VERI.

Ce dispositif de calibration à l'échelle pilote a été exploité sur deux sites : les halles d'essais d'Annet-sur-Marne et de Saint-Thibault des Vignes. Ces halles d'essais VERI sont accolées à des stations de potabilisation et de traitement d'eaux usées, respectivement. Elles bénéficient chacune d'alimentations avec des eaux ayant des caractéristiques variées correspondant aux différentes étapes des traitements.

6.4 Déroulement d'un essai de calibration en laboratoire ou sur pilote

6.4.1 Chronologie

Ce paragraphe vise à préciser les différentes étapes systématiquement réalisées lors de la mise en œuvre d'un essai de calibration en laboratoire et sur pilote, ainsi que la chronologie associée.

Deux jours avant l'immersion des POCIS, l'eau des bacs d'exposition a été dopée ponctuellement, à la pipette, à la concentration nominale (1 µg/L). Le dopage en flux continu a été lancé en parallèle. Cette démarche permet d'atteindre plus rapidement la concentration d'équilibre. Lors du premier essai de calibration, la stabilité des concentrations dans l'eau au cours des premiers jours a été vérifiée pour s'assurer que ce délai de deux jours était adapté. Comme la variation des concentrations dans les deux bacs durant les premiers jours était de l'ordre de celle obtenue pour l'ensemble de l'essai, cette durée d'équilibrage a été considérée comme suffisante et adoptée pour l'ensemble des calibrations ultérieures.

Tableau 41 - Actions et chronologie d'un essai de calibration

Chronologie	Actions	Justification
J-2	Remplissage des récipients d'exposition avec la matrice Dopage ponctuel à la concentration nominale (1 µg/L) Démarrage du dopage en flux continu	Le dopage ponctuel permet d'accélérer l'atteinte de la concentration d'équilibre
J-1	Vérification des débits et ajustements éventuels	Malgré les réglages de débits initiaux, il peut parfois être nécessaire de procéder à de légers ajustements
J	Démarrage de l'essai : immersion des POCIS	
J puis quotidien- nement	Prélèvements d'eau	Suivi des concentrations dans l'eau
	Suivi des paramètres physico-chimiques	Vérification de la stabilité des conditions opératoires
	Renouvellement de la solution de dopage	Eviter les problèmes d'instabilité à température ambiante
	Vérification des débits	La pression exercée par les galets des pompes péristaltiques sur les tuyaux peut générer une usure importante. Les tuyaux ont classiquement été renouvelés tous les 3-4 jours.

Lors de chaque calibration, des POCIS ont été retirés à des temps réguliers et ont été remplacés par des POCIS neufs. Cette approche présente plusieurs avantages :

- Elle permet de maximiser la variété des durées d'exposition avec un nombre limité de positions pour les POCIS.
- Les conditions hydrodynamiques sont maintenues constantes.
- Le nombre de POCIS présents dans le milieu d'exposition, i.e. la capacité d'adsorption totale, est inchangé.

Un essai de calibration peut être schématisé tel que représenté sur la figure 36.



Figure 36 - Planning classiquement suivi pour les calibrations en laboratoire et sur pilote

Les durées d'exposition obtenues sont explicitées dans le tableau 42.

Tableau 42 - Durées d'exposition généralement obtenues lors d'une calibration en laboratoire ou sur pilote

Jour	Actions	Durées d'exposition obtenues
Jour 0	Immersion de 9 POCIS	-
Jour 3	Retrait de 3 POCIS Ajout de 3 POCIS	T3
Jour 5	Retrait de 3 POCIS Ajout de 3 POCIS	T5
Jour 17	Retrait de 3 POCIS (ajoutés à T5)	T12
Jour 20	Retrait de 6 POCIS	T17 et T20

Ce plan expérimental permet d'obtenir les durées d'exposition suivantes en triplicats : t_3 , t_5 , t_{12} , t_{17} et t_{20} à partir de 9 positions pour les POCIS sur le système de calibration.

6.4.2 Echantillonnage et stockage

Deux types de flaconnage ont été utilisés pour les prélèvements d'eau : d'une part des bouteilles en verre et d'autre part des flacons en Nalgene en PEHD.

Des essais préalables de conservation dans ces deux types de flaconnage ont été réalisés : de l'eau Vittel a été supplémentée en pesticides, hormones et composés pharmaceutiques à hauteur de $0,1 \mu\text{g/L}$ puis aliquotée et stockée au congélateur dans une bouteille en verre d'une part et dans un flacon en Nalgene d'autre part. Après 11 jours, les deux échantillons sont extraits selon le protocole précédemment présenté (paragraphe 5.1). Un échantillon dopé de la même manière le jour de l'extraction sert de référence pour le calcul de rendements présentés sur la figure 37.

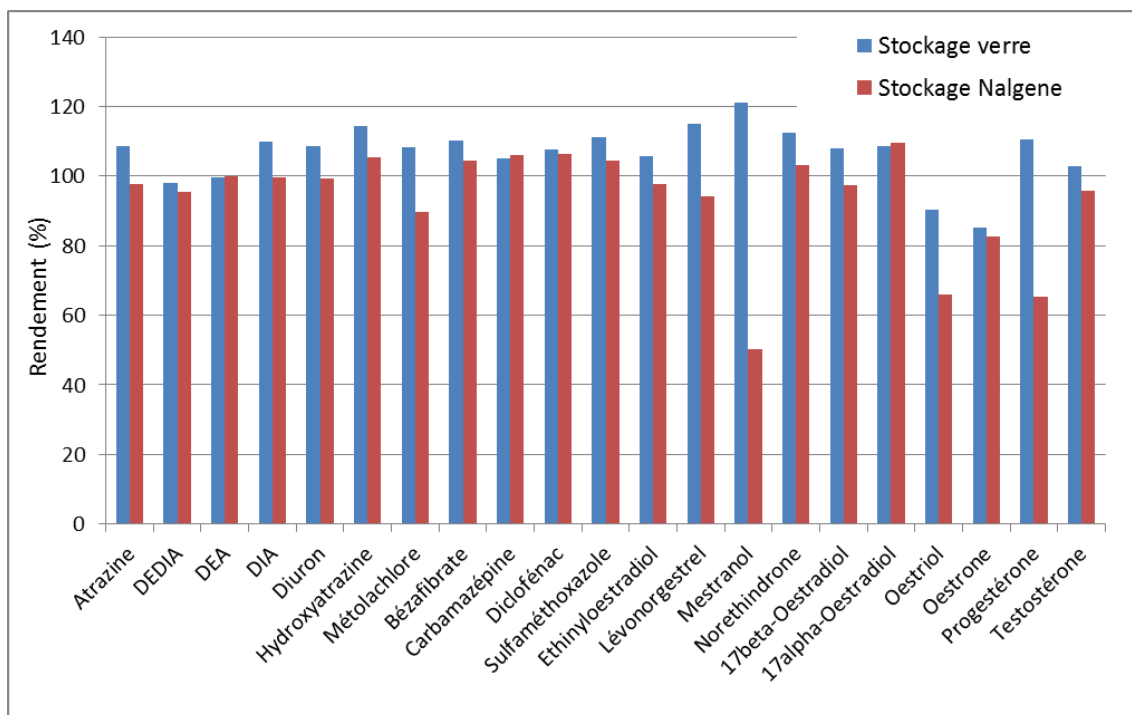


Figure 37 - Test de stockage d'une eau dopée dans du verre et du Nalgene durant 11 jours à -20°C

Ce test a permis de mettre en évidence une importante perte (50%) des composés les plus hydrophobes comme le mestranol et la progestérone dans le Nalgene, probablement due à des phénomènes d'adsorption.

Par ailleurs, le PFOS est susceptible de s'adsorber de manière irréversible sur le verre (Martin et al. 2004). Les prélèvements destinés à l'analyse des composés perfluorés ont donc été réalisés dans du Nalgene.

Par conséquent, un double flaconnage, en verre et en Nalgene, a été employé pour l'ensemble des essais.

Ces prélèvements d'eau ont été réalisés le plus fréquemment possible :

- De manière quasi-quotidienne en laboratoire
- De manière quotidienne sur le pilote pour les prélèvements dans du Nalgene
- De manière quotidienne, hors week-ends, sur le pilote pour les prélèvements dans du verre.

Au laboratoire, les prélèvements ont été réalisés en plongeant directement les flacons dans les récipients d'exposition.

Sur le pilote, les prélèvements ont été réalisés via les électrovannes. Ces dernières ont été actionnées en mode manuel les jours de semaine et en mode programmable durant les week-ends. Le changement de flacon n'étant pas gérable pas ce biais, seul un échantillonnage dans du Nalgene a été réalisé. Chaque vendredi, les tuyaux connectés aux électrovannes ont été positionnés dans les flacons en Nalgene ouverts et placés dans des glacières munies de pains de glace (Figure 38). Chaque électrovanne était programmée pour un des deux jours du week-end, il y avait donc un Nalgene pour le prélèvement du samedi et un autre pour celui du dimanche. Les prélèvements du week-end ont été stockés dès le lundi matin à -20°C.

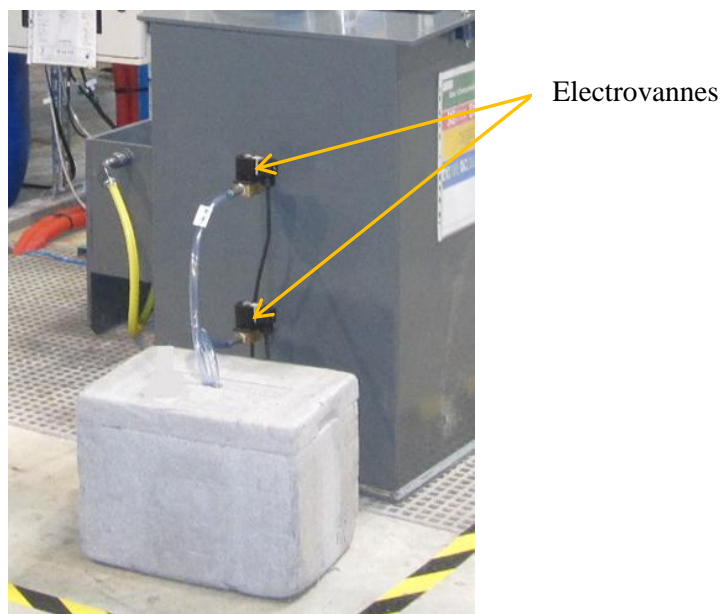


Figure 38 - Configuration pour les prélèvements du week-end sur le pilote

Tous les prélèvements d'eau ont été stockés à -20°C jusqu'à extraction.

Lors du retrait des POCIS du milieu d'exposition, ils ont été identifiés, emballés individuellement dans du papier aluminium puis par triplicats dans des sachets de congélation. Les POCIS ont ensuite été stockés à -20°C jusqu'à l'extraction.

6.5 Calibrations *in-situ*

Réaliser une calibration de POCIS directement sur site comporte un avantage majeur : les taux d'échantillonnage sont obtenus dans des conditions totalement représentatives des conditions réelles de déploiement. Par contre, aucun dopage n'est mis en œuvre, ce qui implique que les composés d'intérêt soient présents dans le milieu. De plus, l'eau du milieu doit être prélevée très régulièrement, idéalement à l'aide d'un préleveur moyenné 24h, afin de caractériser le mieux possible les concentrations dans l'eau au cours de l'exposition des POCIS.

6.5.1 Présentation des sites d'étude

Dans le cadre de ces travaux, deux sites d'études ont été sélectionnés. Il s'agit de deux stations d'épuration. La première est située en France et la seconde en Europe. La rivière en amont et en aval de la seconde STEP a également été utilisée pour des essais.

6.5.1.1 Station d'épuration en France (notée A)

Il s'agit d'une station d'épuration d'une capacité de 100 000 équivalents-habitants, traitant des eaux usées et des eaux pluviales. Elle est équipée d'un système de boues activées, complété par un traitement tertiaire de type coagulation-floculation qui permet d'abattre le phosphore et d'obtenir un abattement supplémentaire des matières en suspension (MES). Le débit de pointe en sortie est de 3600 m³/h. Le débit moyen fourni par l'exploitant au cours des périodes d'exposition des POCIS était de **460 m³/h**.

La section du canal de rejet (profondeur d'eau * largeur du canal) a été estimée à 2,9 m² en moyenne. Par conséquent, ce débit moyen a pu être converti en une vitesse linéaire environ égale à **4,4 cm/s**.



Figure 39 - Vue de la STEP A

Les POCIS ont été exposés dans l'effluent, juste avant le rejet au milieu naturel. Deux campagnes de 15 jours ont eu lieu sur ce site entre septembre et novembre 2012.

Les données d'autosurveillance, comportant notamment les résultats d'analyse de MES, DCO, DBO5, azote et phosphore, ainsi que les suivis de débits et de pluviométrie, ont été communiqués par l'exploitant.

Des prélèvements moyennés 24h ont été réalisés dans l'effluent lors des expositions des POCIS. Ce sont généralement 4 ou 5 prélèvements qui ont été effectués par période de 15 jours d'exposition.

6.5.1.2 Site en Europe (noté B)

Il s'agit d'une station d'épuration d'une capacité de 1,4 millions d'équivalents-habitants, traitant des eaux essentiellement urbaines en réseau unitaire. Ce site est équipé d'un traitement biologique, complété par un Actiflo® (clarificateur à grande vitesse grâce à l'utilisation de micro-sable) en cas de fortes pluies. Après traitement, l'effluent est rejeté dans la rivière, à un débit moyen de 250 000 m³/jour, soit un peu plus de 10 000 m³/h.



Figure 40 - Vue générale de la STEP B (en bleu : filière eau, en rouge : filière boues, en vert : biogaz)

Les POCIS ont été exposés à la fois en amont et en aval de la STEP, et également dans l'effluent. Deux campagnes de 15 jours ont été menées sur ce site en avril 2013.

Les valeurs de température, pH et conductivité ont été mesurées sur les prélèvements moyennés d'eau (amont, aval et effluent) au laboratoire de la STEP. De plus, les résultats d'analyses de MES, DCO, DBO5, azote et phosphore, menées sur l'effluent, ainsi que les suivis de pH, conductivité, débits et pluviométrie, ont été communiqués par l'exploitant.

Chaque jour, des prélèvements asservis au débit sont réalisés dans l'effluent par les exploitants. 4 prélèvements ont été récupérés par période de 15 jours d'exposition.

Des préleveurs moyennés sont également installés en amont et en aval de la STEP. Les POCIS ont été déployés à proximité de ces préleveurs. Les préleveurs ont fonctionné en continu durant la période d'exposition et les échantillons composites ont été récupérés lors de chaque intervention sur le site. Chaque échantillon représente donc la moyenne de plusieurs jours. Cette stratégie a permis de couvrir l'ensemble de la période d'exposition pour les sites amont et aval, tout en limitant le nombre d'échantillons à traiter.

6.5.2 Déroulement des expositions sur site

Sur site, les POCIS ont classiquement été exposés pendant 15 jours dans la cage commerciale. Comme cette cage ne comporte que 6 emplacements pour les POCIS, un choix a dû être fait entre réduire le nombre de réplicats ou limiter le nombre de durées d'exposition. Au vu de la faible variabilité entre triplicats obtenue lors des calibrations en laboratoire ou sur pilote, le choix s'est orienté vers la réduction du nombre de réplicats (duplicats).

Un essai de calibration *in-situ* peut être schématisé tel que représenté sur la figure 41 :

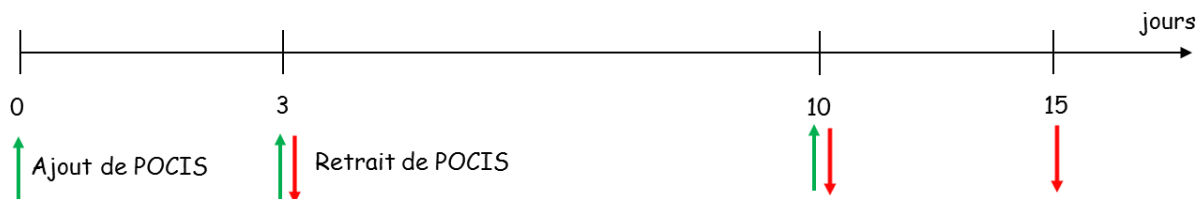


Figure 41 - Planning classiquement suivi pour les calibrations sur site

Les durées d'expositions obtenues sont explicitées dans le tableau 43.

Tableau 43 - Durées d'exposition généralement obtenues lors d'une calibration sur site

Jour	Actions	Durées d'exposition obtenues
Jour 0	Immersion de 6 POCIS	-
Jour 3	Retrait de 2 POCIS Ajout de 2 POCIS	T3
Jour 10	Retrait de 4 POCIS Ajout de 2 POCIS	T7 et T10
Jour 15	Retrait de 4 POCIS	T5 et T15

Ce plan expérimental permet d'obtenir les durées d'exposition suivantes en duplicats : t_3 , t_5 , t_7 , t_{10} et t_{15} à partir de 6 emplacements pour les POCIS.

6.5.3 Echantillonnage et stockage

Lors des calibrations sur la STEP A, deux types de flaconnage ont été utilisés pour les prélèvements d'eau : d'une part des bouteilles en verre et d'autre part des flacons en Nalgene (PEHD).

Sur le site B, le choix a été fait de n'échantillonner l'eau que dans des flacons en PEHD. En effet, les composés posant des problèmes d'adsorption sur ce matériau (hormones les plus hydrophobes comme présenté sur la figure 37) ne sont de toute façon pas présents en concentrations suffisantes pour être quantifiés dans les eaux et dans les POCIS avec les méthodes d'extraction et d'analyse développées dans le cadre de ces travaux.

Tous les prélèvements d'eau ont été stockés à -20°C sur chaque site, puis acheminés à la fin de l'essai au laboratoire en glacière dans les 24h et enfin stockés au laboratoire à -20°C jusqu'à l'extraction.

Lors du retrait des POCIS du milieu d'exposition, ils ont été identifiés, emballés individuellement dans du papier aluminium et dans des sachets de congélation. Les POCIS ont ensuite été acheminés et stockés comme les prélèvements d'eau.

6.6 Traitement des résultats et détermination des taux d'échantillonnage

Après chaque calibration, que ce soit en laboratoire, sur pilote ou sur site, une fois l'ensemble des résultats pour les eaux et les POCIS obtenus, le calcul du taux d'échantillonnage nécessite les opérations indiquées dans le tableau 44.

Tableau 44 - Opérations appliquées aux résultats bruts d'analyse

POCIS	<p>Normalisation de la masse d'analyte dans le POCIS par la masse de phase Oasis HLB récupérée lors de la mise en cartouche :</p> <p>$M_s = \text{masse d'analyte quantifiée (ng)} * \text{masse de phase Oasis HLB nominale (0,2 g)} / \text{masse de phase HLB récupérée (g)}$</p> <p>➔ On obtient donc : M_s (ng)</p>
Eaux	<p>Estimation de la concentration moyenne à laquelle a été soumis chaque lot de POCIS :</p> <p>Par exemple, pour les POCIS exposés le 5^{ème} jour et retirés le 17^{ème} jour, il faut calculer la concentration moyenne dans l'eau d'exposition sur cette période. Pour cela, la moyenne de toutes les concentrations mesurées entre le 5^{ème} et le 17^{ème} jour est effectuée.</p> <p>➔ On obtient donc : C_w (ng/L)</p>

Une fois ces opérations réalisées, il est possible pour chaque durée d'exposition de calculer un facteur de concentration en divisant la masse M_s par la concentration moyenne dans l'eau sur la même période (C_w). En représentant le facteur de concentration, qui est le rapport entre M_s et C_w , en fonction du temps, le taux d'échantillonnage peut être calculé grâce à la pente de la droite de régression associée (cf. Equation 5, page 63).

Pour certains composés et dans certaines conditions, une accumulation curvilinéaire est obtenue. Dans ce cas, le choix a été fait d'effectuer la régression uniquement sur la période d'accumulation linéaire. La variabilité introduite par le choix de stratégie pour obtenir le taux d'échantillonnage sera discutée dans le chapitre 4. Le taux d'échantillonnage est considéré comme valide et utilisable lorsque le coefficient de corrélation entre le facteur de concentration et le temps est supérieur à 0,8.

7. Paramètres testés lors des calibrations

Comme l'a mis en évidence la synthèse bibliographique, de nombreux paramètres environnementaux sont susceptibles d'affecter l'accumulation des composés dans les POCIS. De plus, certains sont très peu documentés alors qu'ils peuvent être potentiellement majeurs lors d'un déploiement sur site, comme le développement de biofilm, la matrice ou encore la température.

Plusieurs paramètres environnementaux ont été testés au cours des différentes calibrations, en laboratoire, sur le pilote ou bien sur site. Le paramètre à évaluer a orienté le choix du système de calibration utilisé. Il était par exemple plus aisé de tester l'influence de la température sur un système de taille limitée, en laboratoire, alors que le système pilote était tout indiqué pour calibrer les POCIS avec des matrices variées. Le tableau 45 récapitule l'ensemble des conditions expérimentales mises en œuvre pour chaque essai de calibration.

Tableau 45 - Conditions expérimentales mises en œuvre pour les différentes calibrations

Essai	Dates	Matrice	Site	Configuration	Paramètre(s) testé(s)	Résultats
1	14 avril au 2 mai 2011	Eau du robinet	Bordeaux	Laboratoire	Membrane et système d'exposition	Article 1
2	16 février au 8 mars 2012	Eau du robinet	Bordeaux	Laboratoire	Membranes et phase adsorbante	Articles 2 et 3
3	31 janvier au 22 février 2013	Eau du robinet	Bordeaux	Laboratoire	Température	Article 5
4	30 mai au 21 juin 2012	Eau de surface brute (dégrillée)	Annet s/ Marne	Pilote	Vitesse d'agitation	Article 5
5	18 juillet au 8 août 2012	Eau de surface filtrée sable	Annet s/ Marne	Pilote	Quantité de phase réceptrice	Chapitre 4
6	22 août au 13 septembre 2012	Eau usée traitée	Saint-Thibault des Vignes	Pilote	Présence de Cuivre dans la phase HLB	Chapitre 4
4, 5, 6	30 mai au 13 septembre 2012	Trois types de matrices	Annet et Saint-Thibault	Pilote	Matrice	Article 5
7	25 septembre au 10 octobre 2012	Eau usée traitée	Site A	<i>In-situ</i>	Dispositif d'exposition	Chapitre 4
8	6 au 21 novembre 2012	Eau usée traitée	Site A	<i>In-situ</i>	Biofilm	Article 4
9	27 mars au 3 mai 2013	Eau de surface (amont)	Site B	<i>In-situ</i>	Biofilm	Article 4
10	27 mars au 3 mai 2013	Eau de surface (aval)	Site B	<i>In-situ</i>	Orientation des membranes en PES	Chapitre 4
11	27 mars au 3 mai 2013	Eau de surface et eau usée	Site B	<i>In-situ</i>	Matrice	Chapitre 4

Les conditions expérimentales utilisées pour chaque essai sont décrites plus en détail dans les paragraphes suivants.

7.1 Membrane du POCIS et validation du système d'exposition – essai n°1

Le premier essai a consisté à calibrer des POCIS en laboratoire, pour les hormones et les composés pharmaceutiques. Deux types de membranes ont été utilisés : les membranes classiques en PES et des membranes en Nylon. Leurs spécifications sont précisées dans le tableau 46.

Le but de cet essai était également de valider le système d'exposition et les protocoles expérimentaux en s'assurant qu'*in fine* des taux d'échantillonnage, cohérents avec la littérature et les résultats précédemment obtenus au laboratoire sur le même système lors d'autres études, pouvaient être déterminés.

Pour tous les essais suivants, l'ensemble des composés : pesticides, hormones, composés pharmaceutiques et composés perfluorés ont été inclus.

7.2 Membrane et phase réceptrice – essai n°2

Lors de cet essai, trois types de membranes ont été testés : des membranes en PES, en Nylon et en polycarbonate. Leurs spécifications sont précisées dans le tableau 46. Afin de pouvoir évaluer l'impact de la nature chimique de la membrane, des membranes comportant le même diamètre de pores (0,1 μm) ont été sélectionnées.

Par ailleurs, des essais avec différentes phases adsorbantes choisies en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques (surface spécifique notamment) et leur coût (Tableau 47) ont permis de mettre en évidence le potentiel de la phase SDB, en mélange avec la phase Oasis HLB, pour échantillonner les composés polaires. Le détail de ces essais est présenté dans l'article 3.

Un lot de POCIS a été préparé avec des membranes PES et un mélange de phase Oasis HLB et SDB (100 mg de chaque type de phase) dont les taux d'échantillonnage ont été comparés avec ceux de POCIS classiques.

Tableau 46 - Caractéristiques des membranes étudiées

	PES	Nylon	Polycarbonate
Diamètre de pores (μm)	0,1	0,1	0,1
Épaisseur (μm)	132	65 - 125	6
Prix à l'unité (€)	4,5	5,4	3,8

Tableau 47 - Caractéristiques des phases solides étudiées

	Oasis HLB	Charbon actif	SDB-1	Serdolit III	Diaion HP-20	Discovery DSC18
Surface spécifique (m^2/g)	810	1070	900	1000	500	480
Diamètre de pores (\AA)	80	5-20	270	200	260	70
Volume de pores (cm^3/g)	1,3	0,43	0,77			
Diamètre des particules (μm)	60	420-840	43 - 123	300-1000	250-850	50
Nature chimique	Copolymère divinylbenzene et N-vinylpyrrolidone	Charbon actif (noix de coco)	Styrène – Divinylbenzène	Styrène – Ethylstyrène - DVB	Styrène – Divinylbenzène	C_{18}
Prix (€/g)	25	0,77	14,8	0,51	0,06	0,67

7.3 Température – essai n°3

L'approche retenue a consisté à thermostatier l'eau d'exposition à des températures extrêmes de manière à couvrir la plupart des situations qui peuvent être rencontrées dans le milieu : 5°C et 20°C. Comme il n'était pas envisageable de faire circuler directement l'eau dopée dans un système thermostaté pour des raisons évidentes de contamination du matériel, les bacs d'exposition ont été placés dans des bacs de taille plus grande remplis d'eau thermostatée (Figure 42).

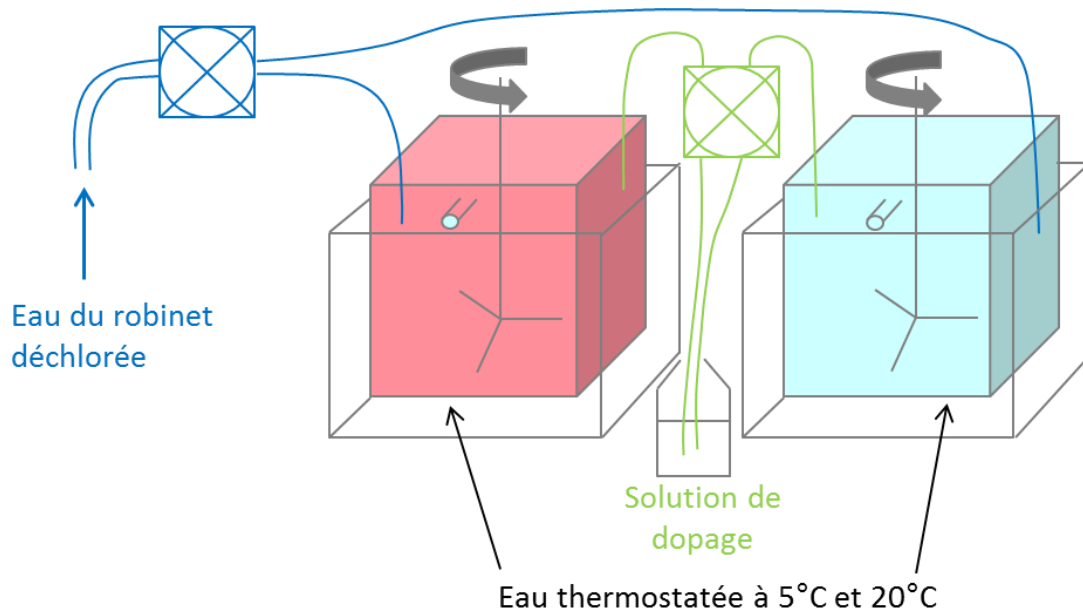


Figure 42 - Schéma du dispositif expérimental utilisé pour étudier l'influence de la température sur les taux d'échantillonnage

7.4 Vitesse d'agitation – essai n°4

Il a été montré dans la synthèse bibliographique que le débit influence le taux d'échantillonnage, en modifiant l'épaisseur de la couche limite d'eau autour du POCIS. Les moteurs d'agitation du pilote avaient une vitesse de rotation réglable grâce à l'ajout d'un variateur de fréquence, par conséquent, deux vitesses de rotation différentes ont pu être testées : 6 et 33 tours par minute (rpm).

Des travaux de modélisation conduits en marge de cette étude ont permis de caractériser le système en termes d'hydrodynamisme. Il était important, à partir de ces vitesses de rotation, de pouvoir estimer une vitesse linéaire de l'eau par rapport au POCIS car l'eau d'exposition est aussi en mouvement. Les résultats détaillés sont présentés dans le chapitre 4. Ces travaux ont fourni les **vitesses relatives** suivantes : **1,2 cm/s** et **6,8 cm/s**. L'estimation de vitesse faite sur l'effluent du site n°1 à partir du débit (4,4 cm/s) permet de conclure que ces valeurs sont représentatives de débits typiquement rencontrés en sortie de STEP donc la plage de travail testée est pertinente au regard du contexte de l'étude.

7.5 Quantité de phase réceptrice – essai n°5

Etant donné que la phase réceptrice du POCIS présente un coût relativement élevé (25 euros le gramme soit 5 euros par POCIS), un essai a été réalisé avec un lot de POCIS comportant une quantité de phase HLB moins importante : 50 mg (soit un coût de 1,25 euros par POCIS).

7.6 Présence de cuivre dans la phase HLB – essai n°6

Lors d'une exposition sur le terrain, des micro-organismes peuvent coloniser la surface du POCIS et s'y développer, formant ainsi un biofilm, qui est susceptible d'impacter l'accumulation des composés dans le POCIS. En raison de son action bactéricide, l'ajout de cuivre pulvérulent dans la phase HLB pourrait éventuellement permettre de limiter le développement des micro-organismes.

7.7 Matrice – essais n°4, 5 et 6

La matrice dans laquelle les POCIS sont exposés peut également avoir un impact sur les taux d'échantillonnage. En effet, le fait que la composition de l'eau soit variable peut entraîner une vitesse d'accumulation variable car il peut exister une compétition entre les analytes et les constituants de la matrice comme la matière organique par exemple.

Lors des essais 4, 5 et 6, dans un des deux bacs du pilote, les paramètres d'exposition (agitation, quantité de phase, nature de phase) étaient fixes et seule la nature de l'eau a varié (eau de surface brute, eau de surface filtrée sur sable, eau usée traitée). Il est donc possible d'étudier l'impact de la matrice sur le taux d'échantillonnage.

7.8 Dispositif d'exposition – essai n°7

Le dispositif de déploiement commercial (Exposmeter) est une cage en Inox percée de trous (cf. Figure 43a). Ce système est largement employé par les utilisateurs d'échantillonneurs passifs afin de les protéger d'éventuels dommages causés par les débris présents dans le milieu. Toutefois, l'hydrodynamisme à l'intérieur de cette cage n'est absolument pas étudié dans la littérature. Il est très probable que ce système abatte le débit par rapport au débit réel du milieu échantillonné.

De plus, sur certains sites d'exposition la hauteur d'eau est faible ou variable, ce qui ne permet pas de garantir l'immersion constante des POCIS lorsqu'ils sont exposés dans la cage de protection. En effet, la plus petite des deux cages commerciales (pour trois POCIS) mesure 15 cm de hauteur, ce qui implique d'avoir toujours au minimum cette hauteur d'eau. Parfois des problèmes d'accessibilité limitent également l'utilisation de la cage qui est relativement volumineuse et peut poser des problèmes de bouchage comme dans des réseaux d'eaux usées brutes par exemple. Dans ce contexte, un dispositif de déploiement alternatif a été mis au point. Il s'agit de protéger la membrane des POCIS de manière individuelle par des petits « grillages » (cf. Figure 43b).

Lors de cet essai, un système de canne permettant d'immerger les POCIS a été testé. Cette canne permet l'exposition des POCIS de manière horizontale, protégés par le grillage métallique. Le débit est probablement moins abattu avec ce type de système par rapport à la cage commerciale.

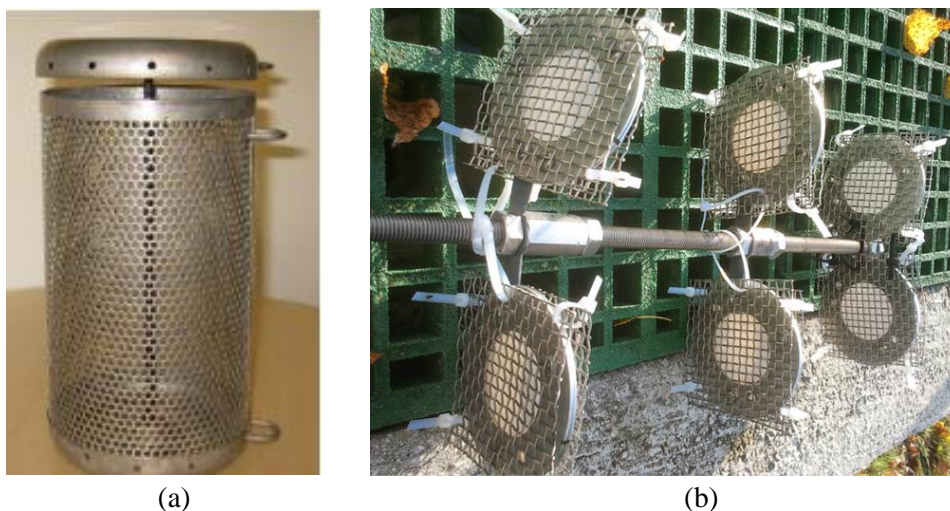


Figure 43 - Dispositif de déploiement commercial des POCIS (a) et canne avec grillage de protection (b)

7.9 Biofilm – essai n°8

Le développement de biofilm sur les membranes est susceptible de modifier le transfert des analytes vers la phase réceptrice car le biofilm peut constituer une barrière supplémentaire au transfert de masse à travers la membrane. Afin de simuler le développement d'un biofilm sur les membranes PES, un premier lot de POCIS a été exposé pendant 15 jours dans l'effluent du site A. Les POCIS ont été démontés et les membranes ont été mises à sécher pendant une nuit à température ambiante. Le lendemain, des POCIS ont été préparés avec ces membranes biofoulées et de la phase Oasis HLB neuve. Un second lot de POCIS neufs a été exposé en parallèle de ces POCIS biofoulés et les taux d'échantillonnage des deux lots ont été comparés.

7.10 Biofilm – essai n°9

Une approche similaire a été adoptée pour cet essai. Les POCIS ont cette fois été pré-exposés dans la rivière en amont de la STEP du site B car lors de l'essai précédent en sortie de la STEP A, un développement de biofilm modéré avait été obtenu. Il semblait alors intéressant de tester une autre matrice, probablement différente en termes de composition microbiologique et en matière organique. Il s'est finalement avéré que les POCIS étaient davantage recouverts par une sorte de vase que par du biofilm (Figure 44).



Figure 44 - Vue d'un POCIS après 15 jours d'exposition dans la rivière en amont de la STEP sur le site B

7.11 Orientation des membranes PES – essai n°10

Macroscopiquement, les membranes en PES commercialisées par PALL, et classiquement employées par les utilisateurs de POCIS, comportent deux faces visuellement différentes : une est mate et l'autre est brillante. Des observations au microscope électronique à balayage (MEB) réalisées dans le cadre de la thèse de C. Soulier (2012) ont permis de mettre en évidence une différence structurale entre les deux faces. Les résultats obtenus montrent également que le rinçage des membranes au méthanol n'altère pas la structure poreuse de la membrane en PES.

Dans le cadre de ces travaux de thèse, des observations au MEB ont confirmé ces résultats (Figure 45). La différence manifeste de structure entre les deux faces peut potentiellement jouer sur le transfert de masse de l'environnement vers la phase réceptrice, et par suite impacter le taux d'échantillonnage.

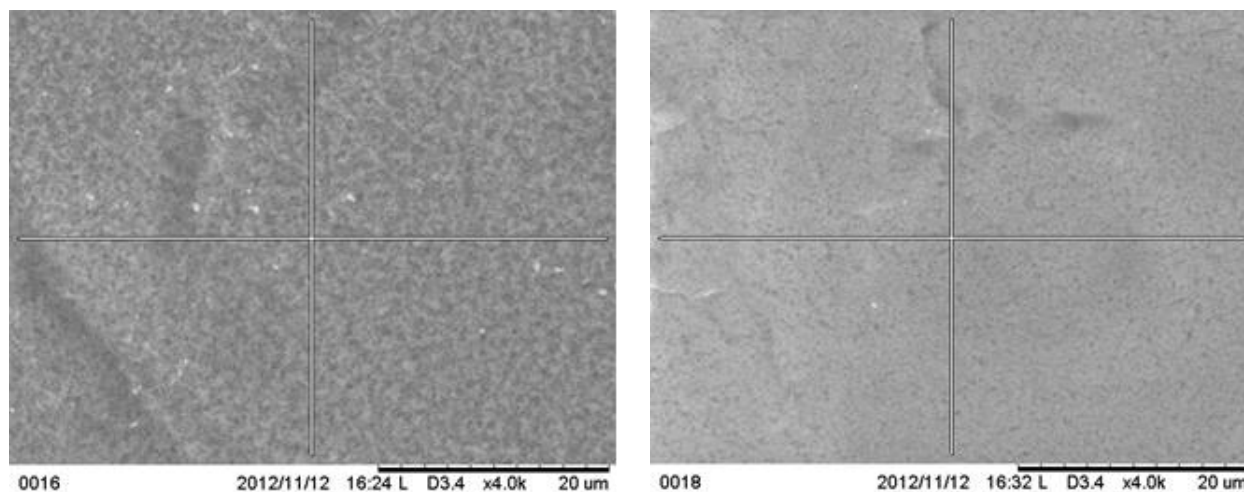


Figure 45 - Vues au MEB de la face mate (gauche) et de la face brillante (droite) de la membrane en PES commercialisée par PALL (x 4000)

Par ailleurs, d'un point de vue opérationnel, il est important de documenter cela car si l'orientation de la membrane n'a pas d'importance, il n'est pas nécessaire d'y apporter une attention particulière lors du montage des POCIS qui se trouve alors allégé.

7.12 Matrice – essai n°11

Lors de l'exposition sur le site B, les POCIS ont été exposés dans trois matrices différentes : en amont de la STEP (eau de surface), dans l'effluent de la STEP (eau usée traitée) et en aval (matrice résultant du mélange entre les deux apports). Les paramètres physico-chimiques comme la température, le pH et la conductivité se sont avérés être très proches aux trois sites d'exposition (amont, aval et effluent). Par ailleurs, même si les débits sont susceptibles d'être légèrement différents entre les trois sites d'exposition, l'utilisation de la cage commerciale aide à tamponner ces variations, ce qui laisse penser que la différence de matrice est le paramètre prépondérant.

8. Evaluation du caractère intégratif du POCIS

Dans l'optique d'une application des POCIS comme outil de surveillance des milieux, il est important de documenter la capacité de cet outil à rendre compte d'événements ponctuels, comme un épisode de pollution par exemple. Afin d'apporter des éléments de réponse à cette problématique, un essai simulant des pics de pollution a été réalisé sur le dispositif pilote.

L'essai a été réalisé avec de l'eau usée traitée, dans la halle de Saint-Thibault des Vignes. Les POCIS ont été exposés au maximum 12 jours de manière à rester dans la période d'accumulation linéaire. En effet, le POCIS doit forcément se trouver en régime cinétique pour qu'il puisse intégrer des événements ponctuels (Booij et al. 2007).

Le principe de ce test était d'exposer certains POCIS à des pics de concentration, d'en laisser d'autres en parallèle dans un bac subissant une contamination faible mais continue, et de comparer en fin d'essai les quantités accumulées par les deux lots de POCIS. Trois pics de 24h ont été simulés : un en début d'exposition, un au milieu et un dernier à la fin. Ce plan expérimental a été adopté pour que l'essai soit représentatif de la diversité des situations éventuellement observées dans l'environnement, et que la durée de l'événement ponctuel soit plus longue que le temps de réponse des POCIS.

L'impact du retour à des conditions standard a également été évalué en remplaçant des POCIS ayant subi un pic de concentration dans le bac témoin.

Les deux récipients d'exposition du pilote ont été utilisés :

- Le premier bac d'exposition était dopé en flux continu à 1 µg/L de la même manière que pour les calibrations sur le pilote, via une pompe péristaltique. Les concentrations dans l'eau ont été suivies quasi-quotidiennement.
- Le second bac d'exposition a subi des pics de concentrations d'une durée d'un jour chacun. Les concentrations visées lors des pics étaient de 10 µg/L. Cette concentration était suffisamment différente de la concentration de base pour que les effets des pics soient distinguables d'une variabilité purement analytique. Ces concentrations ont été atteintes par des dopages ponctuels, une fois au début de chaque pic. Ces dopages ponctuels sont représentés par des flèches sur la figure 46. Des prélèvements d'eau ont été effectués avant et après chaque dopage ponctuel, ainsi que le lendemain de chaque dopage. Ils sont symbolisés par des étoiles sur la figure 46. Entre deux pics, le bac a été simplement alimenté en eau usée traitée, ce qui conduit à une décroissance progressive des concentrations au cours du temps, représentée en pointillés sur la figure 46.

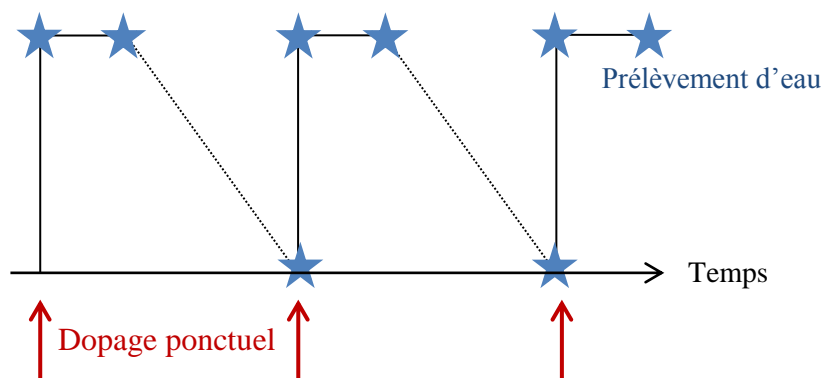
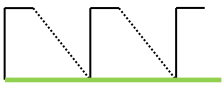
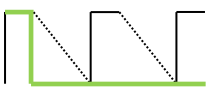
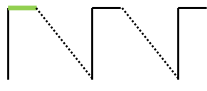
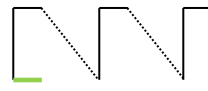



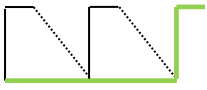



Figure 46 - Plan expérimental suivi lors de la simulation des pics de concentration (les flèches représentent les dopages ponctuels et les étoiles les prélèvements d'eau)

Par un jeu d'allers-retours entre les deux bacs, les différents POCIS ont été exposés aux concentrations représentées en vert dans le tableau 48.

Tableau 48 - Représentation des concentrations subies par les différents POCIS (en vert)

POCIS « témoin » sans pic de concentration			
Pic de concentration en début d'exposition			
Pic de concentration en milieu d'exposition			
Pic de concentration en fin d'exposition			
POCIS ayant subi les 3 pics de concentration			

Parmi les POCIS ayant subi les pics de concentration, ceux représentés dans la première colonne ont subi la totalité du ou des pics. Ceux figurant dans la deuxième colonne n'ont subi que le début de chaque pic et ont ensuite été retirés du bac d'exposition avant d'être stockés. En les comparant à ceux de la première colonne, il est possible d'évaluer l'impact du retour à des conditions standard, avec une éventuelle désorption de certains composés.

Enfin, les POCIS représentés dans la dernière colonne sont des témoins qui n'ont été exposés qu'à la concentration basse et retirés en même temps que les POCIS ayant subi les pics de début et de milieu d'exposition (seconde colonne). La différence entre les quantités accumulées par ces deux lots de POCIS permet d'avoir des données sur la quantité accumulée spécifiquement pendant le pic de concentration.

9. Participation aux essais interlaboratoires organisés par l'association NORMAN

Dans l'optique d'une utilisation éventuelle des POCIS dans un cadre réglementaire (DCE par exemple), il est essentiel de confronter des résultats obtenus par différents laboratoires afin de positionner ce type de prélèvement par rapport aux prélèvements conventionnels.

Un essai inter-laboratoires (EIL) a été organisé en 2011 par l'association NORMAN (réseau de laboratoires de référence pour l'analyse de polluants émergents), en partenariat avec l'« European DG Joint Research Centre ».

Des POCIS ont été exposés durant 14 jours dans le canal de sortie de la STEP de Brno-Modřice en République Tchèque.

Deux lots différents d'échantillonneurs passifs ont été analysés par les participants :

- Les échantillonneurs passifs (POCIS ou autre type) fabriqués au laboratoire ou achetés par les participants, et envoyés aux organisateurs (design au choix du participant)
- Les POCIS fabriqués par les organisateurs pour garantir l'homogénéité de ce lot d'échantillonneurs (membrane PES, phase HLB).

En parallèle, des prélèvements moyennés 24h d'eau ont été effectués sur toute la durée d'exposition. Ces échantillons ont été combinés pour avoir des échantillons « moyennés 7 jours » puis analysés par les laboratoires de référence. Les résultats ont ensuite été confrontés aux concentrations estimées par les participants à l'aide des capteurs passifs. La méthode d'estimation des concentrations dans l'eau (taux d'échantillonnage tiré de la littérature, obtenu en laboratoire ou sur le terrain / utilisation de PRC ou non...) était volontairement laissée à la libre appréciation des participants afin d'évaluer la variabilité introduite par cette étape.

Les composés ciblés pour cet EIL étaient les suivants :

- **Pesticides** : atrazine, carbendazim, déséthylatrazine, déséthylterbutylazine, diuron, S-métolachlor, terbutylazine.
- **Composés pharmaceutiques** : alprazolam, atenolol, carbamazépine, diazépam, diclofénac, ibuprofène, naproxène.
- **Hormones stéroïdiennes** : 17 α -œstradiol, 17 α -éthinyloœstradiol, 17 β -œstradiol, œstriol, œstrone
- **Plastifiants** : bisphénol A
- **Produit de soin** : triclosan
- **Composés perfluorés** : PFOA et PFOS

La participation à cet EIL a inclus l'étude des pesticides, des composés pharmaceutiques, des hormones, du bisphénol A et des composés perfluorés. Parmi ces familles, les composés qui sont soulignés font partie de la liste des molécules ciblées dans le cadre de ces travaux de thèse.

Chapitre 3 : Résultats

Ce chapitre est organisé sous forme d'une suite de cinq articles scientifiques dans lesquels figurent les principaux résultats expérimentaux obtenus au cours de ces travaux de thèse.

Le **premier article** comprend à la fois des résultats de calibration de POCIS en laboratoire, portant sur les hormones stéroïdiennes, et des résultats de modélisation. Cette double démarche a permis d'obtenir un premier jeu de données de taux d'échantillonnage et a conduit à la validation du système de calibration en termes d'hydrodynamisme.

Le **second article** présente des résultats pour les composés perfluorés obtenus au laboratoire lors d'une calibration avec des designs de POCIS variés. Différentes membranes (PES, Nylon et polycarbonate) ont été testées au cours de cette calibration. Les quantités de composés piégées dans les trois types de membranes y sont également présentées, ainsi que les résultats obtenus lors de l'essai inter-laboratoires NORMAN.

Dans la même optique d'optimisation de design, des tests de désorption et de percolation ont été menés sur différentes phases adsorbantes afin de sélectionner la plus prometteuse. Une calibration a ensuite été effectuée au laboratoire avec la phase retenue, ainsi que différentes membranes (PES, Nylon et polycarbonate). Les résultats sont l'objet du **troisième article**.

L'applicabilité du POCIS en station d'épuration et en rivière a pu être testée sur deux sites d'étude. Le premier objectif de ces essais était d'obtenir des taux d'échantillonnage *in-situ*, et de les confronter aux taux d'échantillonnage obtenus au laboratoire ou sur pilote. L'influence du biofilm sur les taux d'échantillonnage a aussi été évaluée à cette occasion. Un autre objectif majeur de ces expositions sur site était de positionner le POCIS par rapport aux techniques d'échantillonnage traditionnelles. Ces résultats de terrain figurent dans le **quatrième article**.

Le **cinquième article** fait le bilan de l'impact des paramètres environnementaux étudiés dans le cadre de ces travaux : température, débit et matrice, sur le comportement du POCIS. Enfin, la capacité du POCIS à intégrer des événements ponctuels comme des pics de pollution a été validée.

Dans un souci de lisibilité, toutes les références bibliographiques sont fournies en fin de manuscrit.

Publication n°1 : Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) calibration for steroid hormones, and flow modelling in the calibration system

Pour soumission à Analytical Chemistry

Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) calibration for steroid hormones, and flow modeling in the calibration system

Perrine WUND^{1,2}, Jérôme CHARTIER³, Gaëla LEROY², Thomas THOUVENOT⁴, Valérie INGRAND² and Hélène BUDZINSKI^{1*}

¹ Univ. Bordeaux, EPOC-LPTC, UMR 5805, 351 cours de la Libération, 33405 Talence, France

² Veolia Environnement Recherche et Innovation, Centre de Recherche de Saint Maurice, Immeuble «Le Dufy », 1 Place de Turenne, 94417 Saint Maurice Cedex, France

³ Veolia Environnement Recherche et Innovation, Zone Portuaire de Limay, 291 avenue Dreyfous Ducas, 78520 Limay, France

⁴ Veolia Environnement Recherche et Innovation, Centre de Recherche de Maisons-Laffitte, Chemin de la Digue, 78603 Maisons-Laffitte

Corresponding author: Hélène BUDZINSKI h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr
+33 (0) 5 40 00 69 98

Abstract

Water pollution from emerging contaminants such as steroid hormones is one of the important stakes of current environmental research. Passive sampling can be an alternative approach to conventional grab sampling and can provide a more accurate image of the contamination, as well as being easier to handle than large volume water samples. Two POCIS configurations were tested: one with Polyethersulfone (PES) membranes, which is the traditional design, and a different design with Nylon membranes, allowing less polar compounds to reach the sequestration medium. A laboratory calibration in a flow-through exposure system was carried out during 18 days. Accumulation of the most hydrophobic mestranol in the PES-POCIS occurred with a 6-day lag phase, whereas a linear uptake was obtained with Nylon membranes. All other compounds accumulated linearly whatever the membrane used, but sampling rates were always lower with Nylon membranes. No significant desorption of steroid hormones from spiked HLB sorbent occurred. Computational Fluid Dynamics (CFD) modeling with Fluent software confirmed the homogeneity of the exposure system used. It also provided an estimation of the flow at the surface of the samplers in the calibration system.

Keywords

POCIS, steroid hormones, calibration, CFD modelling, emerging substances

Introduction

Over the past decade, a widespread pharmaceutical contamination of lakes, rivers and ground waters has been increasingly documented (Kolpin et al. 2002; Focazio et al. 2008; Loos et al. 2010). The rising interest for these emergent pollutants is not only concomitant with the general and growing use of human and veterinary pharmaceutical product consumption, but also with the improvement of analytical techniques allowing trace detection (Focazio et al. 2008). Among all pharmaceuticals released in the environment, steroid hormones, either natural or synthetic, are of major concern. These compounds are typically encountered in the aqueous environment at very low, but toxicologically relevant, concentrations (ng.L^{-1}) (Vulliet et Cren-Olivé 2011; Cargouët et al. 2004). They can in fact interfere with the normal functioning of the endocrine system, leading to adverse effects on reproduction of aquatic wildlife (Gyllenhammar et al. 2009; Hu et al. 2011; Kidd et al. 2007; Pawlowski et al. 2004).

One of the main drawbacks of conventional grab sampling is the poor representativeness of the actual contamination. Passive sampling can be an alternative approach that provides a more accurate image of the contamination (Poulier 2013). It also mimics to some extent biological uptake while being easy to handle and cost-effective (Seethapathy et al. 2008; Vrana et al. 2005). Various types of passive samplers exist: Semi-Permeable Membrane Devices (SPMD), Chemcatcher, Polar Organic Chemical Integrative Samplers (POCIS)... Each of them has a specific design enabling to sample compounds over a defined range of polarity.

POCIS has been shown to successfully accumulate various polar compounds such as pharmaceuticals, polar pesticides, steroid hormones and alkylphénols (Alvarez et al. 2005; Arditoglou et Voutsas 2008; Mazzella et al. 2007; Togola et Budzinski 2007). This approach can be used to make a screening for the presence or absence of pollutants, to assess toxicity of compounds in extracts from the receiving phase and to measure time-weighted average (TWA) concentrations of waterborne pollutants (Vrana et al. 2005; Stuer-Lauridsen 2005).

Two different sorbents are commonly used: Oasis Hydrophilic-Lipophilic Balanced (HLB) sorbent in the “Pharm” configuration and a triphasic admixture of Isolute ENV+/Ambersorb 1500 carbon (80/20) dispersed on S-X3 Biobeads in the “Pest” configuration (Alvarez et al. 2004). The sorbent is sandwiched between two membranes and the whole is held by two support rings. Classically, Polyethersulfone (PES) membranes with $0.1\ \mu\text{m}$ pores are used (Alvarez, 1999). In a very recent paper from Belles et al. (2013), large pore-size Nylon membranes ($30\ \mu\text{m}$) have shown interesting potential to sample linearly less polar compounds which may exhibit a lag-phase over PES membranes (Vermeirssen et al. 2012). However, this improvement can be either related to the pore size enlargement or to the modification of the chemical nature of the membrane. In the present work, Nylon membranes with the same pore size as PES membranes are investigated in order to directly compare the effect of the chemistry of the membrane material. In fact, steroid hormones are quite hydrophobic compounds ($2.8 < \log K_{\text{ow}} < 4.7$ for the compounds targeted in this study), therefore Nylon membranes may represent a valuable alternative to PES membranes and thus were included in the scope of the present work.

Laboratory calibration of POCIS under controlled conditions provides sampling rates, which are necessary for the estimation of TWA concentrations after field deployment. However, sampling rates may vary depending on exposure conditions such as temperature, water flow, pH (Togola et Budzinski 2007; Li et al. 2010a; Li et al. 2011). Therefore, it is important to evaluate the flow at the surface of the samplers in laboratory conditions.

Different calibration designs have been described in the literature. The authors mostly use glass or stainless steel tanks of various sizes, containing water that is either spiked at the beginning of the

experiment (Li et al. 2010a; Li et al. 2011), or regularly spiked (Arditsoglou et Voutsas 2008; Togola et Budzinski 2007; Lissalde et al. 2011; MacLeod et al. 2007) or continuously spiked with a flow-through design (Zhang et al. 2008). But it is unclear if satisfactory mixing is ensured by these systems and how representative of real hydrodynamic regimes they are. Therefore, fluid mechanic simulations involving numerical methods and algorithms, also referred to as Computational Fluid Dynamics (CFD), are of interest to provide more data on these crucial issues. To our knowledge, it is the first time that a thorough hydrodynamic validation of the calibration system has been undertaken.

The aim of this study was to investigate the uptake and desorption of ten steroid hormones: estrone (E1), 17 α -estradiol (17 α -E2), 17 β -estradiol (17 β -E2), 17 α -ethinylestradiol (EE2), estriol (E3), progesterone (Pg), testosterone (T), levonorgestrel (DN), mestranol (MeEE2) and norethindrone (No) from samplers in a flow-through exposure system. Two configurations of POCIS were assessed regarding selected compounds: POCIS with a PES membrane and POCIS with a Nylon membrane. CFD modeling with Fluent software (ANSYS, Canonsburg, USA) was carried out to assess the mixing efficiency of this system and to provide an estimation of the flow at the surface of the samplers.

Theory

In the linear uptake regime, the accumulation of a compound in a POCIS follows the equation (Vrana et al. 2005) : $M_s = C_w R_s t$

With M_s : mass of analyte accumulated in the receiving phase (ng)

C_w : water concentration of the analyte (ng.L⁻¹)

R_s : sampling rate (L.day⁻¹)

t : exposure time (days)

The sampling rates can thus be determined by plotting the concentration factor: $C_f = M_s / C_w$ for each molecule over time. The sampling rate is the slope of the associated linear regression.

Experimental section

Material and chemicals

Methanol (MeOH) and acetonitrile from JT Baker and acetone from Scharlau were provided by Atlantic Labo (Bruges, France). Dichloromethane (DCM) from Acros was provided by Fischer Scientific (Illkirch, France).

Ultra-pure water was produced with a Millipore BioPak ultrafiltration cartridge.

Formic acid of “Baker analysed” grade was provided by Atlantic Labo (Bruges, France).

POCIS were prepared in the laboratory using Oasis HLB bulk phase, which was purchased from Waters (Guyancourt, France). Hydrophilic PES SUPOR 100 membranes (0.1 μ m, 90 mm diameter) were provided by VWR International (Fontenay-sous-Bois, France) and Nylon membranes (0.1 μ m, 90 mm diameter) by Fischer Scientific (Illkirch, France).

Oasis HLB cartridges (3 mL, 60 mg) were purchased from Waters (Guyancourt, France). Glass Solid-Phase Extraction (SPE) cartridges of 6 mL with PTFE frits (20 μ m porosity) were purchased from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France).

All analytical standards (E1, 17 α -E2, 17 β -E2, EE2, E3, Pg, T, DN, MeEE2, No) were purchased from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France). Five internal standards were used for quantification purposes; E1 d4, 17 β -E2 d4, 17 α -EE2 d4, Pg d9 were obtained from Cluzeau Info Labo (Saint Foy La Grande, France) and Testosterone d3 from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France). All standards had a chemical purity higher than 98%.

POCIS extraction

Three different solvent mixtures were tested to recover target analytes from HLB sorbent: 5 mL MeOH - 5 mL MeOH/DCM (50/50 v/v) – 5 mL DCM (mixture 1), 15 mL MeOH/DCM (50/50 v/v) (mixture 2), 10 mL MeOH – 10 mL MeOH/DCM (50/50 v/v) – 5 mL DCM (mixture 3).

200 mg of HLB sorbent was put in glass extraction cartridges and spiked in triplicate with a methanolic solution containing all target compounds, resulting in a spike of 200 ng per compound. The cartridges were placed on a Visiprep vacuum manifold (Supelco) and extracted after the solvent had been evaporated. Internal standards were added in the extracts.

Once the best elution protocol had been determined, extraction of real samplers could be performed. POCIS were rinsed with deionized water to remove any material adhering to the membrane surface. Then they were disassembled and the sorbent was carefully transferred with mineral water (Vittel, France) into glass extraction cartridges fitted with PTFE frits. The cartridges were dried under vacuum for about one hour and eluted with the appropriate solvent mixture. Internal standards were added in the extracts, as the elution protocol had shown to give satisfactory recoveries. The extracts were evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen and transferred into injection vials in 300 μ L of MeOH.

Calibration: uptake of target compounds

Calibration system consisted of two 27L glass tanks filled with dechlorinated tap water (20 mg.L⁻¹ sodium thiosulfate). Water was stirred at 45 rpm by overhead stirrers and was kept at room temperature. Dechlorinated tap water and a methanolic solution containing steroid hormones (10 μ g.L⁻¹) were continuously pumped with peristaltic pumps (Ismatec, Glattbrugg, Switzerland) in the tanks, allowing the water concentration in the exposure tanks to remain almost constant at about 100 ng.L⁻¹. The flow rates of dechlorinated water and methanolic solution were approximately 8.6 L.day⁻¹ and 80 mL.day⁻¹ respectively, which enabled a complete renewal in a tank within 3 days. The resulting methanol concentration (< 1%, v/v) is not expected to affect analyte partitioning between water and samplers. Each tank contained one type of sampler (i.e. with PES or Nylon membranes). The whole system is shown in figure 1.

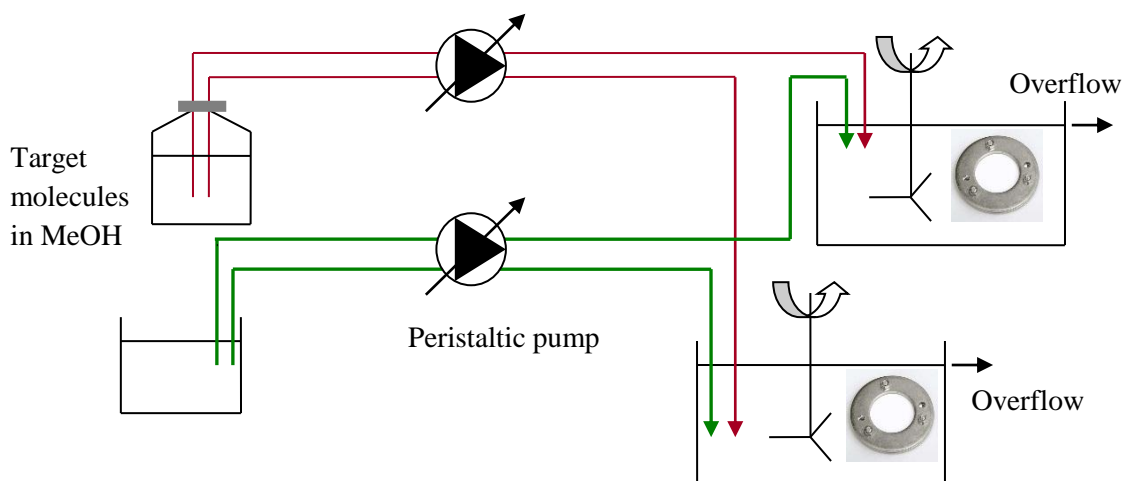


Figure 1 - Flow-through calibration system

Before exposing the samplers, water in the tanks was initially spiked to the nominal concentration (100 ng.L^{-1}) with a stock solution of target chemicals (1 mg.L^{-1}). Then the methanolic solution ($10 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) and fresh water were pumped during two days without any sampler, allowing the system to equilibrate. Triplicate samplers were then introduced, regularly retrieved from the exposure system and replaced by fresh samplers. Such a procedure has several advantages: hydrodynamic conditions stay unaltered, the uptake potential remains constant and the accumulation profile is more precise (various exposure periods). Addition and retrieval of samplers is represented in figure 2. Water samples were taken almost every day and stored frozen until extraction. The water flowing out of the flow-through exposure system was continuously cleaned on activated carbon.

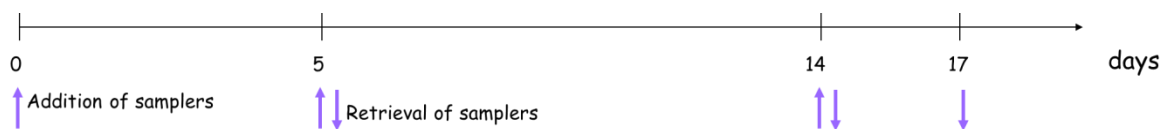


Figure 2 – Schedule of the calibration

Water extraction

Water samples from the calibration tanks were extracted on Oasis HLB cartridges (60 mg, 3 mL). 100 mL of water were spiked with 5 ng internal standards. Cartridges were first conditioned with 6 mL of MeOH and 6 mL of ultra-pure water. Samples were loaded on the cartridges, which were then dried under vacuum for about 1 hour. Elution was performed with 6 mL acetone/MeOH (80/20), which had proven to give satisfactory recoveries for spiked water samples.

The extracts were evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen and transferred into injection vials in 300 μL of MeOH.

Desorption of target compounds

For the desorption experiments, spiked HLB sorbent was prepared. 375 μL of individual steroid stock solutions ($\sim 100 \mu\text{g.g}^{-1}$ in MeOH) were added to 6 g of HLB bulk sorbent and 50 mL of dichloromethane. Sonication during 10 minutes followed by rotary evaporation provided 6 g of Oasis HLB sorbent spiked at about $5 \mu\text{g.g}^{-1}$. Each POCIS was assembled with 200 mg of this sorbent and placed in the same tanks, under the same exposure conditions as for the calibration (45 rpm stirring speed, ambient temperature and dechlorinated tap water). Samplers were retrieved on day 2, 4, 7, 11 and 15. Water from both tanks was continuously cleaned on activated carbon so as to remain free of steroid hormones. The decrease of steroid hormone concentrations in HLB sorbent was monitored.

LC-MS/MS Analysis

All analyses were performed by liquid-phase chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with electrospray ionization (ESI) source. Samples were injected on a Waters Acquity UPLC coupled to a Quattro Premier XE mass spectrometer. Analytes were separated chromatographically on a C₁₈ Kinetex column (Phenomenex, Le Pecq, France) (100 x 2.1 mm, 1.7 μm particle size). The column was kept at 35°C and 5 μL of sample were injected in the chromatographic system. Mobile phases were: A - Ultrapure water + 0.1% formic acid and B - Acetonitrile + 0.1% formic acid, at a flow rate of 0.6 mL.min⁻¹. The elution gradient program was as follows: the column was equilibrated using 100% A, the gradient was then increased to 60% B within 4 min and to 100% B within 6 min. It was held at 100% B for 0.5 min before returning to the starting conditions at 7 min and equilibrated for 2 min before next analysis, resulting in a total run time of 9 minutes. The LC-MS/MS instrument was operated in positive ion mode using multiple-reaction monitoring (MRM) for the transition ions listed in Table 1. Capillary voltage was set at 3.5 kV. Gas flow rate was 800 L.h⁻¹. All other MS/MS parameters (collision energy, cone voltage) are also reported in table 1. Target compounds were quantified with internal standard calibration. The response factors of the analytes were measured by injecting a mixture of standard reference compounds.

Table 1. MS/MS parameters used for steroid hormones analysis

Compound	Quantification transition	Collision energy (eV)	Confirmation transition	Collision energy (eV)	Cone voltage (V)
Estrone	271.1 > 253.1	15	271.1 > 159.0	22	20
17 α -Estradiol	255.2 > 159.0	22	255.2 > 132.9	18	25
17 β -Estradiol	255.2 > 159.0	22	255.2 > 132.9	18	25
17 α -Ethinylestradiol	279.3 > 132.9	20	279.3 > 159.0	23	20
Estriol	271.1 > 253.1	10	271.1 > 159.0	20	22
Progesterone	315.3 > 96.9	25	315.3 > 108.9	25	35
Testosterone	289.2 > 96.9	22	289.2 > 108.8	25	32
Levonorgestrel	313.3 > 108.8	30	313.3 > 90.8	40	30
Mestranol	293.2 > 146.9	20	293.2 > 173.0	20	30
Norethindrone	299.2 > 109.0	28	299.2 > 90.8	40	35
Estrone d4	275.2 > 257.3	15			25
17 β -Estradiol d4	259.2 > 160.9	22			25
17 α -Ethinylestradiol d4	283.3 > 134.9	20			25

Progesterone d9	324.3 > 99.9	25	35
Testosterone d3	292.2 > 96.9	23	35

CFD modeling with Fluent software

The calibration system was considered as monophasic i.e. water and spiking solution were considered as clear water. The standard k- ϵ turbulence model is one of the most commonly used turbulence models (Launder et Spalding 1972). This model was selected because it provided the best result accuracy to calculation time ratio. Three-dimensional conservation equations were solved.

A steady-state calculation provided a characterization of the flow (velocity profiles, pathlines, and turbulence parameters). Another calculation was carried out in transient mode. A tracer injection was simulated and its concentration in water on the POCIS surfaces was evaluated for the 120 first seconds after injection.

Results and discussion

Recovery of the target analytes

Elution of analytes from spiked HLB sorbent was performed to determine the extraction recovery of steroid hormones and to optimize the elution protocol. All average recoveries were between 83% and 118% for the target compounds (Figure 3).

The three elution conditions provide approximately the same results. The first solvent mixture (5 mL MeOH - 5 mL MeOH/DCM (50/50) – 5 mL DCM) should be preferred because methanol is already routinely used to extract polar analytes from HLB sorbent (Alvarez et al. 2005; Li et al. 2011) and the addition of dichloromethane enables to extract less polar compounds (Tapie et al. 2011). Choosing this solvent mixture also minimizes solvent volume compared to the third mixture, which means a reduced evaporation time.

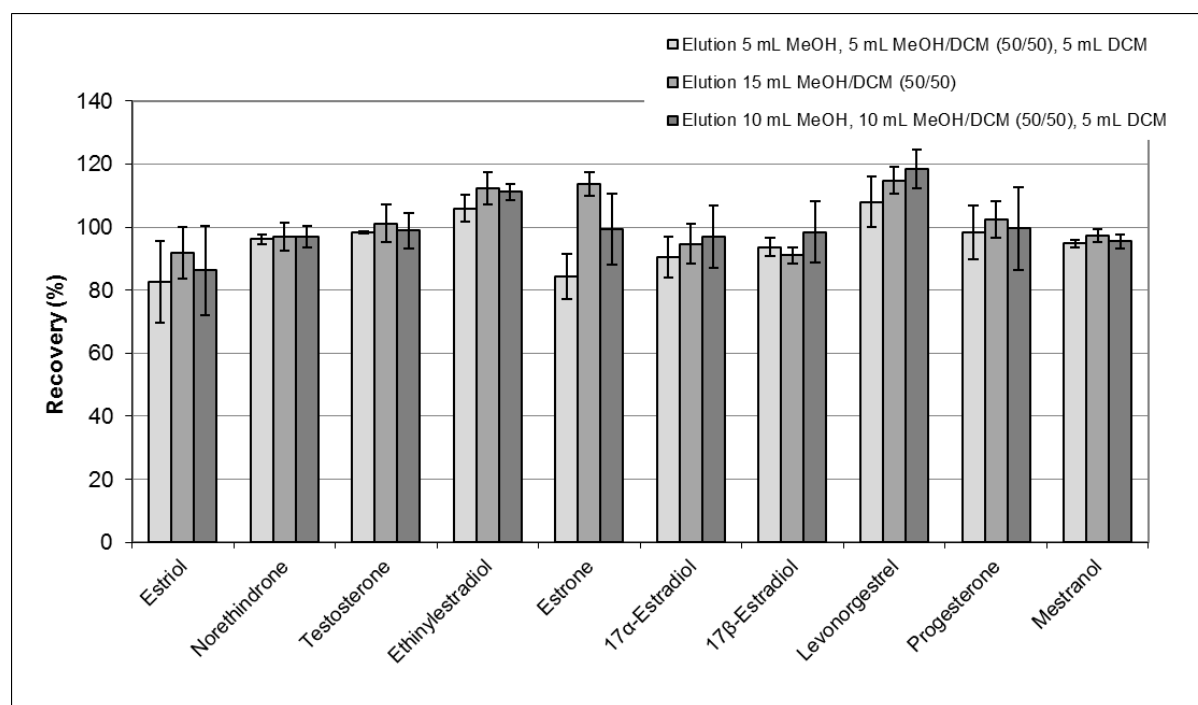


Figure 3. Average recoveries ($n = 3$) of steroid hormones from spiked HLB sorbent using three different elution conditions

Flow modeling in the tanks

The tracer concentration difference between all POCIS surfaces was modeled for the 120 first seconds after injection simulation (Figure 4a). Extrapolation on a longer time was possible thanks to a regression. It resulted in less than 1% tracer concentration variability after 30 min. Therefore, considering the 2-day equilibration time before POCIS exposure, homogeneity in the calibration system was achieved when POCIS were immersed.

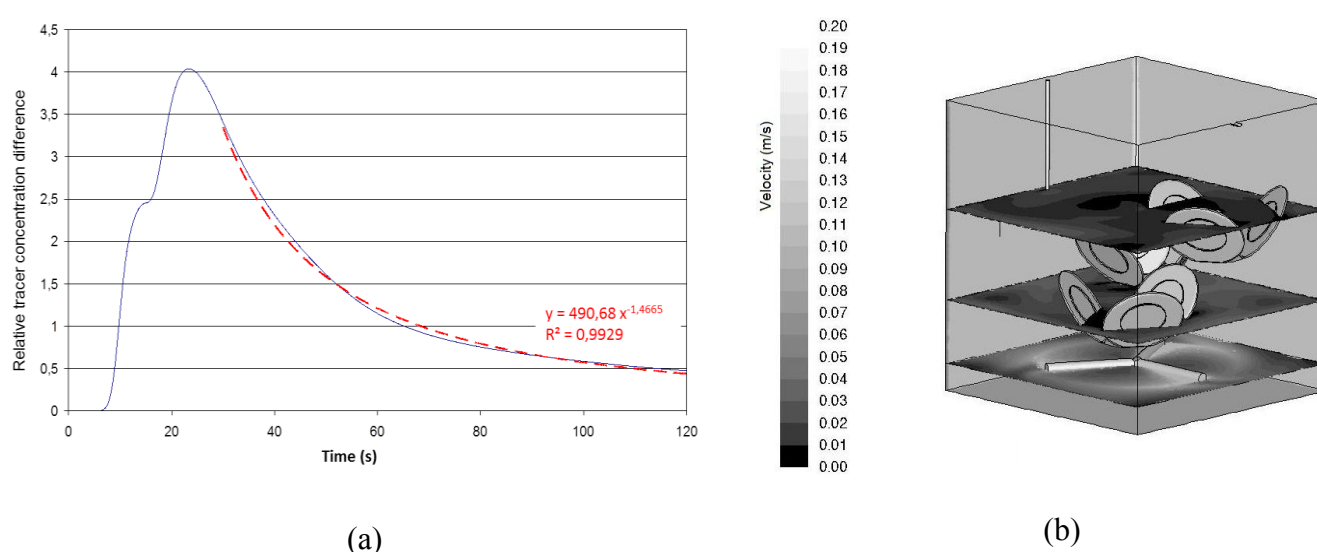


Figure 4. Maximal relative concentration difference between POCIS surfaces over the 120 first seconds (a) and representation of water flow rate (m.s^{-1}) in the exposure tank (b)

The characterization of the flow (velocity profiles, pathlines, and turbulence parameters) supplied an estimation of the water flow rate at the surface of the samplers (Figure 4b). It was relatively low compared to a river stream (0.035 m.s^{-1}). As it has been demonstrated in the literature (Li et al. 2010a; Li et al. 2010b; Bailly et al. 2013) that water flow rate affects analyte uptake in the samplers by modifying the boundary layer thickness, it is highly important to characterize the water flow rate in the calibration tanks so as to assess how representative of the environment they are.

Therefore, CFD modeling with Fluent software proved that the flow-through calibration system provides a homogeneous exposure environment for the samplers with a quite low water velocity. After having been validated in terms of hydrodynamics, POCIS calibration was implemented in the laboratory with this calibration design.

Calibration results

Thanks to the flow-through exposure system, water concentration of the target analytes remained approximately constant at the nominal concentration (100 ng.L^{-1}). Standard deviations lower than 30 ng.L^{-1} ($n = 16$) were obtained for all compounds except estriol (40 ng.L^{-1} , $n = 16$), in both tanks. Water concentrations were almost equal in both tanks, which means that both types of samplers (i.e. with PES and Nylon membranes) were exposed to the same analyte concentrations. Concentrations were generally lower than the nominal concentration, which may be due to the adsorption of steroid hormones to the glass walls or silicone joints of the tanks. The average concentrations for each analyte and the associated standard deviations over the exposure period are provided in the Supporting Information.

The sampling rates were calculated by plotting the concentration factor ($C_f = M_s / C_w$) against time, the sampling rate being the slope of the associated linear regression. The mean water concentration (C_w) which the POCIS were exposed to was taken into account; i.e. for samplers exposed from day 5 to day 14 for example, C_w corresponded to the mean water concentration over this period.

Most compounds showed a linear accumulation pattern whatever the membrane on the sampler. However, the accumulation of mestranol occurred with a lag time of about 6-7 days with the PES membrane but not with the Nylon membrane, as shown on figure 5. This phenomenon has already been described for other compounds (Harman et al. 2008; Vermeirssen et al. 2012; Belles et al. 2013). It is due to the hydrophobicity of mestranol ($\log K_{ow} = 4.67$) which may slow down the crossing through the hydrophilic PES membrane.

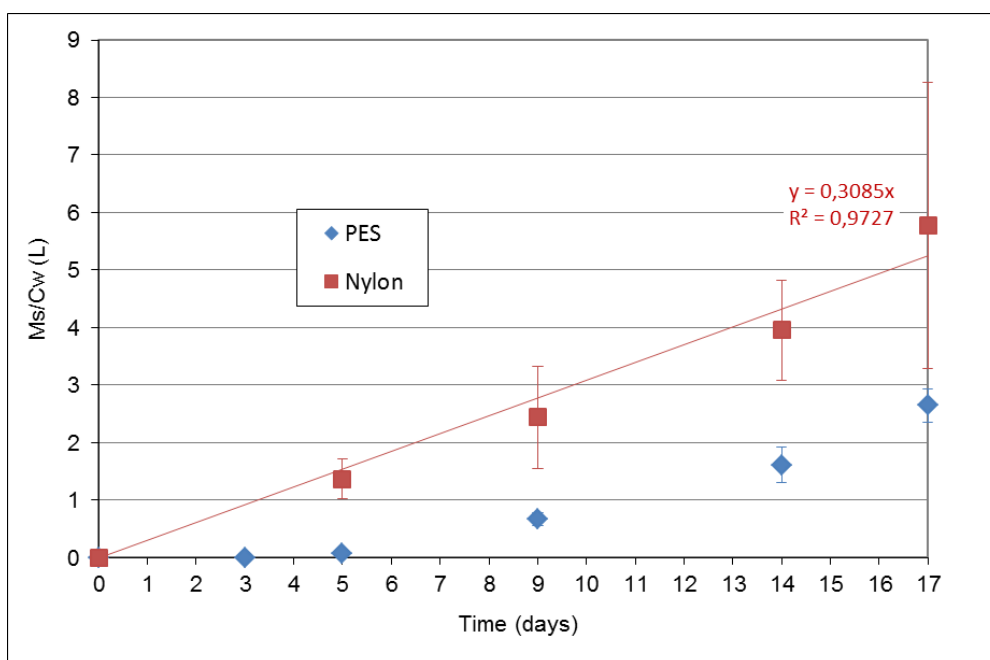


Figure 5. Comparison between accumulation of mestranol in PES-POCIS and in Nylon-POCIS (n = 3)

For all other compounds, accumulation in the samplers was linear with both types of membranes so sampling rates could be determined (Table 2). Standard deviations were estimated as the mean standard deviations between triplicates of POCIS. The accumulation of some compounds with Nylon membranes seemed to be linear over a shorter period than with PES membranes. This was particularly the case for estrone, 17α -estradiol and levonorgestrel. For these compounds, the sampling rate (Table 2) was calculated by fitting the experimental data on the linear period. As an example, the accumulation of 17α -estradiol with both types of membranes is presented on figure 6.

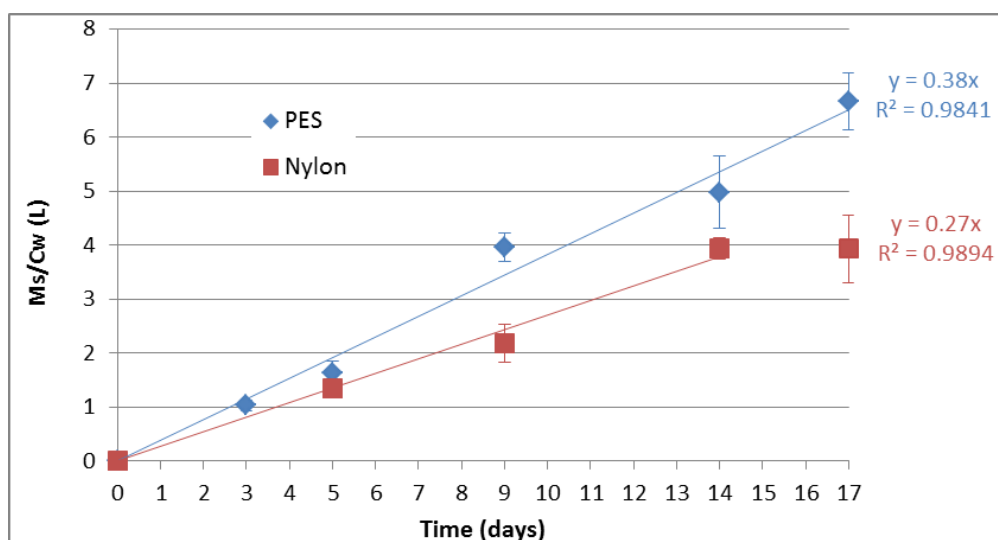


Figure 6. Comparison between accumulation of 17α -estradiol in PES-POCIS and in Nylon-POCIS (n = 3)

Table 2. Sampling rates and standard deviations (L.day⁻¹) for target compounds with both types of membranes (n = 3)

Compound	PES membrane		Nylon membrane	
	R _s (L.day ⁻¹)	Standard deviation (L.day ⁻¹)	R _s (L.day ⁻¹)	Standard deviation (L.day ⁻¹)
Estrone	0.32	0.05	0.22	0.02
17 α -estradiol	0.38	0.04	0.27	0.03
17 β -estradiol	0.55	0.07	0.32	0.04
17 α -ethinylestradiol	0.25	0.02	0.18	0.04
Estriol	0.29	0.04	0.14	0.03
Progesterone	0.39	0.03	0.27	0.03
Testosterone	0.46	0.04	0.26	0.03
Levonorgestrel	0.69	0.08	0.38	0.03
Mestranol	n.a.	n.a.	0.31	0.11
Norethindrone	0.47	0.04	0.26	0.03

Sampling rates obtained with Nylon membranes were consistently lower than sampling rates obtained with the classical configuration of POCIS. Therefore, the steroid hormones targeted in this study accumulate less when Nylon membranes are used. Thus, Nylon-POCIS could be less sensitive than PES-POCIS. However, Nylon-POCIS enables to sample integratively the more hydrophobic compounds like mestranol. This could be of interest to calculate TWA concentrations for a wider range of polarities than classical POCIS.

In fact, Belles et al. (2013) have worked with Nylon membranes with a larger pore size (30 μ m) and obtained an enhanced accumulation in the modified device compared to POCIS with PES membranes. In the present study, membranes with similar pore sizes were selected in order to evaluate the influence of the chemistry of the membrane material. Taking into account these sets of results, it can be inferred that both membrane chemistry and pore size have an influence on uptake kinetics. It highlights the diversity of mass transfer phenomena that governs the sampling process, as also suggested by Belles et al. (2013).

Desorption results

No significant desorption of target analytes from HLB sorbent was noticed, neither with PES membrane nor with Nylon membrane. As an example, desorption of five steroid hormones from PES POCIS is presented on figure 7.

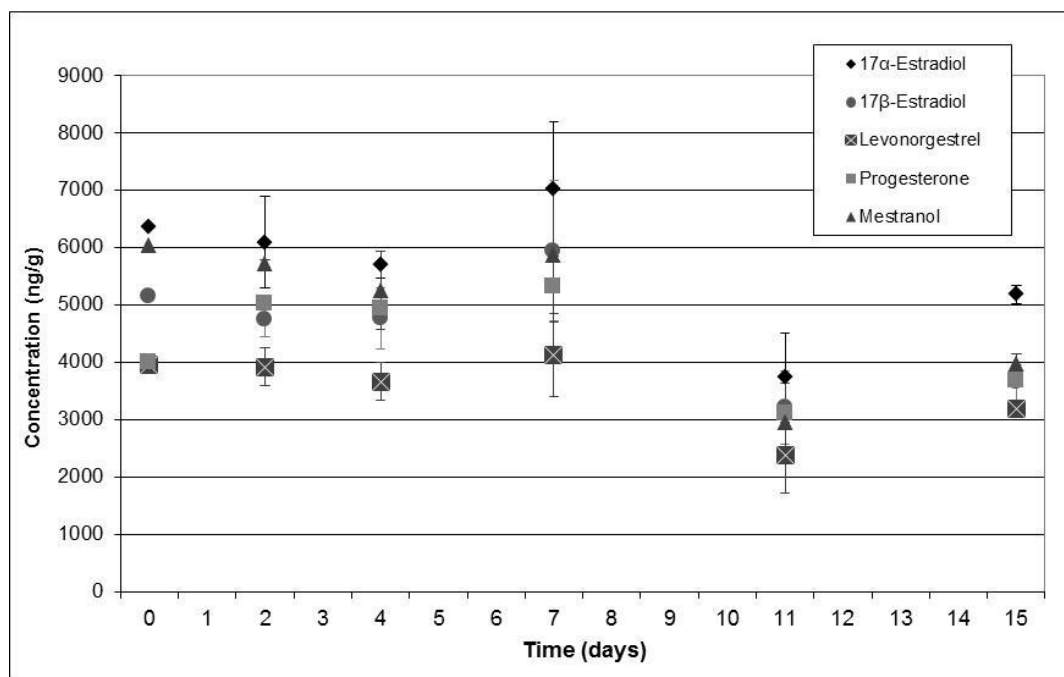


Figure 7. Desorption of steroid hormones from HLB sorbent with a PES membrane (n = 3)

The membrane did not play a significant role in the desorption process. These results are in agreement with what Belles et al. (2013) observed concerning the dissipation of desisopropylatrazine-d5 (DIA-d5), caffeine-C13 and salbutamol-d3 with PES and Nylon membranes.

Steroid hormones are quite hydrophobic, so they do not tend to desorb from the HLB sorbent, whatever the membrane. Desorption normally occurs with more hydrophilic compounds that have a higher affinity for the water phase than steroid hormones, like DIA (Mazzella et al. 2010). Thus, the compounds studied here will remain in the sampler once trapped. In fact, if a concentration peak of steroid hormones occurs, compounds will remain in the receiving phase of POCIS even if the water concentration decreases to a very low level, which is of high interest to monitor variable environmental concentrations.

Conclusions

CFD modeling with Fluent software proved that the flow-through calibration system provided a homogeneous exposure environment for the samplers. Water flow rate at the surfaces of the POCIS could be estimated around 0.035 m.s^{-1} .

Two POCIS configurations with two different membranes (PES and Nylon) were studied. Sampling rates could be calculated for both membrane types, except for mestranol, for which only R_s with Nylon membranes were calculated. This hydrophobic compound exhibited a lag-phase of 6-7 days with the PES membrane only. For the other steroid hormones, sampling rates were always lower with Nylon membranes than with PES membranes. The linear periods were also shorter for some compounds (estrone, 17α-estradiol and levonorgestrel). Thus, Nylon-POCIS could be used for short deployment times, which probably limits a biofilm formation on the samplers. With Nylon membranes, compounds with polarities in a broader range than classical POCIS may be sampled integratively, but a lower amount will accumulate in the samplers. For both membrane types, the

desorption study showed that, once steroid hormones are sampled, they will not desorb from HLB sorbent during at least 15 days, whatever the drop of concentrations in water may be.

ASSOCIATED CONTENT

Experimental supporting information. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

* Mailing address: Hélène BUDZINSKI – Univ. Bordeaux, EPOC-LPTC, UMR 5805, 351 cours de la Libération, 33405 Talence, France

E-mail: h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

Acknowledgements

The Aquitaine Region and the European Union (CPER A2E project) are acknowledged for their financial support. “Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund”. The ANRT is acknowledged for the PhD grant. This study has been carried out in the framework of the Cluster of Excellence COTE.

Supporting Information

Mean water concentrations of steroid hormones in both tanks during the calibration and associated standard deviations (n = 16).

Compound	Tank 1 - Nylon membranes		Tank 2 – PES membranes	
	Mean water concentration ng/L	Standard deviation ng/L	Mean water concentration ng/L	Standard deviation ng/L
Estrone	83	29	80	25
17 α -estradiol	94	29	99	19
17 β -estradiol	49	18	51	12
17 α -ethinylestradiol	66	18	59	10
Estriol	88	41	98	40
Progesterone	50	20	52	17
Testosterone	70	23	77	18
Levonorgestrel	48	15	50	11
Mestranol	40	10	40	6
Norethindrone	52	16	55	10

Publication n°2 : Calibration of Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) for two perfluorinated compounds in tap water and treated wastewater

Pour soumission à Analytica Chimica Acta

Calibrations of Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) for two perfluorinated compounds in tap water and treated wastewater

Perrine WUND^{a,b}, Gaëla LEROY^b, Valérie INGRAND^b, Pierre LABADIE^a, Branislav VRANA^c and
Hélène BUDZINSKI^a

^a Univ. Bordeaux, EPOC-LPTC, UMR 5805, 351 cours de la Libération, 33405 Talence, France

^b Veolia Environnement Recherche et Innovation, Centre de Recherche de Saint Maurice, Immeuble « Le Dufy », 1 place de Turenne, 94417 Saint Maurice Cedex, France

^c Masaryk University, Faculty of Science, Research Centre for Toxic Compounds in the Environment RECETOX, Kamenice 753/5, 625 00 Brno, Czech Republic.

Corresponding author: Hélène BUDZINSKI h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr
+33 (0) 5 40 00 69 98

Abstract

The presence and persistence of perfluorinated compounds (PFCs) in the environment have been established, which has led to increased regulation regarding these compounds. Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) is a valuable tool for monitoring polar compounds such as pharmaceuticals or pesticides. Although POCIS may also be of interest to monitor PFCs, its ability to sample these compounds has not been investigated in detail.

In this study, POCIS were first calibrated in the laboratory with three types of membranes: polyethersulphone (PES), nylon and polycarbonate. All POCIS membranes were solvent extracted to quantify the amounts of PFCs trapped in the membranes. Sampling rates could be estimated for all designs and led to the selection of the classical design of POCIS (PES membranes) which exhibited a good linearity over 20 days and satisfactory concentration factors i.e. sensitivities.

Another calibration experiment was then carried out in environmentally relevant conditions (pilot system supplied with treated wastewater) and provided sampling rates within the same range as laboratory values. Finally, field deployment in a wastewater treatment plant (WWTP) outflow proved that POCIS can be successfully implemented on-site to monitor various chemicals including PFCs.

Keywords

POCIS, passive sampling, PFC, water, emerging substances

Introduction

Perfluorinated compounds (PFCs) are synthetic chemicals used for their hydrophilic-lipophilic balanced properties in a wide range of industrial applications, such as oil and water repellent coating, food packing material, electronic devices, fluoropolymer manufacturing, cosmetics, fire-fighting foams and other applications (Lindstrom et al. 2011).

PFCs include a large group of chemicals which are characterized by a fully fluorinated hydrophobic and oleophobic carbon chain that can be either linear or branched. The carbon chain is attached to various hydrophilic moieties such as carboxylic acids or sulfonates for example. The C–F bond is particularly strong, which explains chemical and thermal stability of these compounds (Key et al. 1997).

Besides, exposure to PFCs may lead to possible toxic impacts on organisms (Latała et al. 2009; Wei et al. 2009). Therefore, their presence and persistence in water have raised concerns in the last few years. In 2010, perfluorooctanesulfonate (PFOS) and its salts were included under the Stockholm Convention (Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs)) as substances which production and use should be restricted. In August 2013, the European Commission included PFOS into the list of priority substances under the Water Framework Directive with an Environmental Quality Standard (EQS) for inland surface waters of 0.65 ng.L^{-1} (Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council, 2013). Perfluorooctanoic acid (PFOA) has also been subjected to increased regulation in order to limit its emission to the environment (2010/2015 PFOA Stewardship Program, USEPA).

It has been previously demonstrated that PFOS and PFOA are not effectively removed during wastewater treatment (Ahrens 2011; Heidler et Halden 2008; Sinclair et Kannan 2006), making wastewater treatment plant (WWTP) outfalls a potential source of PFCs in aquatic ecosystems. Drinking water may be an exposure route for humans to PFCs as several studies have reported their presence at the ng.L^{-1} level (Mak et al. 2009; Thompson et al. 2011; Skutlarek et al. 2006).

One of the main drawbacks of conventional grab sampling is the poor representativeness of the sampling as regards the actual contamination. Passive sampling can be an alternative approach that provides a more accurate image of the contamination. It also mimics to some extent biological uptake while being easy to handle and cost-effective (Seethapathy et al. 2008; Vrana et al. 2005).

It has been shown that Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) successfully accumulates various polar compounds such as pharmaceuticals, polar pesticides, steroid hormones and alkylphénols (Alvarez et al. 2005; Arditoglou et Voutsas 2008; Mazzella et al. 2007; Togola et Budzinski 2007). This passive sampler contains HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balanced) sorbent in its “Pharm” configuration, enclosed between two PES membranes (Alvarez et al. 2004).

POCIS is of interest to make a global monitoring of various polar compounds in water, including PFCs. However, very few studies have reported on the PFC accumulation kinetics in this device and there is an obvious lack of quantitative information (e.g. uptake rate, optimal deployment duration...) regarding these compounds. Grabic et al. (2010) reported the accumulation of PFOS, PFOA and PFNA in POCIS, proving that this tool may be valuable to sample these molecules. Kaserzon et al. (2012) have set up an alternative passive sampler that contains weak ion-exchange material instead of HLB sorbent, enabling to sample a very broad range of perfluorinated alkylcarboxylates and sulfonates. However, this passive sampler can only be used with negatively charged molecules, which is not the case for most compounds usually targeted by POCIS. A recent paper from Fedorova et al. (2013) provided the first on-site calibration data with “Pest” and “Pharm” POCIS. Unfortunately, no sampling rate could be obtained for PFOA with “Pharm” POCIS because equilibrium was reached

very quickly. However this POCIS configuration is increasingly being used, mostly for ease of fabrication reasons; therefore, calculating PFOA sampling rate with “Pharm” POCIS is of high interest.

In this study, PFOA and PFOS were chosen as tracer compounds to assess the applicability of passive sampling with POCIS in global monitoring programs including these compounds. Calibration experiments were first conducted in the laboratory with tap water. During this experiment, three types of membranes were assessed: PES, nylon and polycarbonate (PC) because the modification of the membrane material influences the accumulation kinetics of compounds in the device (Alvarez et al. 2004; Belles et al. 2013).

A second calibration was then carried out at pilot scale with treated wastewater in order to work with environmentally relevant calibration conditions. To explore POCIS applicability under field conditions, samplers were deployed in the outflow of a WWTP in Brno-Modřice (Czech Republic). This study was part of an inter-laboratory comparison organized by the Network of reference laboratories for monitoring of emerging environmental pollutants (NORMAN) (Vrana et al. 2012).

Experimental section

Materials and chemicals

Methanol (MeOH) and acetonitrile (ACN) from JT Baker were provided by Atlantic Labo (Bruges, France). Dichloromethane (DCM) from Acros was provided by Fisher Scientific (Illkirch, France). Ultra-pure water was produced with a Millipore BioPak ultrafiltration cartridge. Formic acid of “Baker analysed” grade was provided by Atlantic Labo (Bruges, France).

POCIS samplers were prepared in the laboratory using Oasis HLB bulk phase (60 µm), which was purchased from Waters (Guyancourt, France). Hydrophilic PES SUPOR 100 membranes (0.1 µm, 90 mm diameter) were provided by VWR International (Fontenay-sous-Bois, France). Nylon and PC membranes with the same specifications as PES membranes were provided by Fisher Scientific (Illkirch, France).

Oasis HLB cartridges (6 mL, 200 mg) were purchased from Waters (Guyancourt, France). 6 mL polypropylene (PP) empty cartridges with polyethylene (PE) frits were purchased from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France).

PFOS and PFOA analytical standards were provided by Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France). PFOS standard from this supplier actually contains a mixture of linear and branched isomers. The linear isomer can be easily chromatographically separated from the branched isomers. PFOS standard from Wellington Laboratories (Guelph, Ontario, Canada) only contains the linear isomer, which enabled us to quantify each form of PFOS in the standard from Sigma-Aldrich and in the samples. ¹³C-labelled PFOS and PFOA were purchased from Wellington Laboratories (Guelph, Ontario, Canada) and were used as internal standards.

Water, POCIS and membranes extraction

Water samples were spiked with 20 ng of internal standards and extracted on Oasis HLB cartridges (6 mL, 200 mg). Cartridges were first conditioned with 5 mL MeOH and 5 mL mineral water (Vittel, France). After loading of the sample and drying of the cartridge under vacuum, analytes were recovered with 5 mL MeOH, 5 mL MeOH/DCM (50/50) and 5 mL DCM. This solvent mixture gave satisfactory recoveries on spiked water samples (100 ± 11 % and 102 ± 5 % for PFOA and PFOS, respectively, $n = 3$). Extracts were evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen (purity higher than 99,995 %, supplied by Linde Gas, Saint-Priest, France) and transferred into injection vials in 150 μ L MeOH and 150 μ L ultra-pure water. Polypropylene inserts were used so as to limit a possible adsorption of the PFCs onto glass.

After exposure, POCIS were disassembled and the sorbent was carefully transferred with mineral water (Vittel, France) into PP cartridges fitted with PE frits. The cartridges were dried under vacuum for about one hour and eluted as described above for water samples. 40 ng of internal standards were added in the eluates, which were then evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen and transferred into injection vials using 150 μ L MeOH and 150 μ L ultra-pure water.

During the laboratory calibration, membranes were also extracted in order to better understand transport mechanisms between water and sorbent. The two membranes of a POCIS were folded and placed in a 22 mL vial. Then, 20 mL of MeOH were added and vials were put in an ultrasonic bath during 20 minutes. Membranes were removed and extracts were spiked with 20 ng of internal standards, before being evaporated and taken up as described above.

Calibration at laboratory scale

Two different flow-through designs were used for calibration purposes. The first one is presented on figure 1 and was used in the laboratory. POCIS were exposed in two 27 L tanks. Water was mixed at 45 rpm by overhead stirrers, which corresponded to a 1.5 cm.s^{-1} linear water velocity. Tap water flow rate was 8.6 L.day^{-1} , which enabled a complete renewal in a tank within 3 days. Target analytes were dissolved in MeOH (0.1 mg.L^{-1}), this spiking solution was injected into the tanks at a 80 mL.day^{-1} flow rate, resulting in a nominal concentration of about $1 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$. The subsequent methanol concentration ($< 1\%$, v/v) is not expected to affect analyte partitioning between water and POCIS.

Actual water concentrations were assessed experimentally. Daily water samples were collected from both tanks in HDPE bottles and stored frozen until extraction.

Three different types of membranes were tested: PES, nylon and PC, all with $0.1 \text{ }\mu\text{m}$ pores. PES POCIS were deployed in triplicate in the first tank and retrieved after 5, 10, 15 and 20 days of exposure, whereas only one nylon-POCIS and one PC-POCIS were collected from the second tank at these times. These POCIS configurations could not be exposed in triplicates because of the available volume in the tank. After POCIS collection, they were wrapped in aluminum foil and stored frozen in hermetically closed freezer bags until extraction.

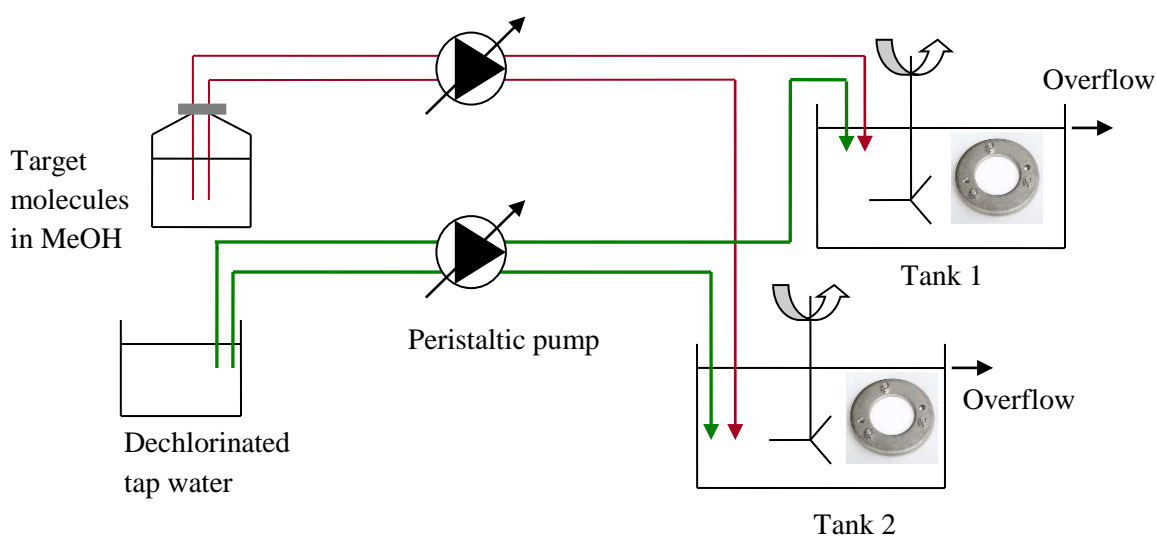


Figure 1 – Experimental design used for calibrations in the laboratory

Calibrations at pilot scale

For calibrations at pilot scale, POCIS were placed on holders (Exposmeter AB, Taveljö, Sweden) that were fixed to the rotating axis of stirring motors (MDP Motors, Miribel, France). Samplers were thus in rotation, which allows to better control the linear velocity of water at their surface. However, as exposure water may also move, real flow rate at the surface of the POCIS may be different from the nominal value. Therefore, modeling studies with Computational Fluid Dynamics (CFD) are of interest to provide a flow rate value relative to POCIS. Such studies were carried out with Fluent software (ANSYS, Canonsburg, USA), which can be used in the water industry (Goula et al. 2008; Brouckaert et Buckley 1999). The rotation speed of the motor was set to 33 rpm, which corresponded to a 6.8 cm.s^{-1} water velocity. The 200 L tanks were continuously fed with treated wastewater (70 L.day^{-1}) and spiking solution at 0.2 mg.L^{-1} (250 mL.day^{-1}), resulting in a nominal concentration of about $1 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$. Daily water samples were also collected in HDPE bottles and stored frozen until extraction. Physico-chemical parameters of the treated wastewater were monitored on a daily basis.

Only PES-POCIS were studied in this experiment. Triplicate POCIS were retrieved after 3, 5, 12, 17 and 20 days of exposure, and stored as described above.

As it was found during the laboratory study that linear and branched PFOS isomers behave in a similar way regarding accumulation in the HLB sorbent (Table 2) and in the membranes (Figure 4), the sum of the two chromatographic peaks (from the linear and branched isomers) was considered during the pilot calibration and the compound was simply referred to as “PFOS”.

Sampling rate determination procedure

The calculation of sampling rates has already been described in details elsewhere (Vrana et al. 2005). Briefly, assuming that the POCIS are in linear uptake regime, the sampling rate (R_s , in L.day^{-1}) links the mass sampled by POCIS (M_s , in ng) to the time-weighted average (TWA) water concentration (C_w , in ng.L^{-1}) and time (t , in days), according to:

$$M_s = R_s C_w t \quad (1)$$

POCIS were exposed during various durations up to 20 days, and the concentration factors M_s / C_w were plotted against time. Data was fitted with a linear regression and the sampling rate could be deduced from its slope. When the uptake curves were curvilinear, only the initial data points (i.e. before equilibrium was reached) were used to calculate the sampling rate.

NORMAN interlaboratory study

This study was part of an inter-laboratory field trial which was organized in order to increase the acceptance of passive sampling technology, to improve knowledge about the variability of results obtained using various passive sampling techniques and the contribution of individual steps in the sampling process (sampling and analysis) to the overall variability (Vrana et al. 2012).

Two sets of triplicate POCIS, one prepared by the organizers and the other one by the participants, were exposed for 14 days at the outflow of a WWTP in Brno-Modřice during June and July 2011. This urban WWTP¹ is equipped with activated sludge secondary treatment and has a maximum capacity of 4200 m³ s⁻¹.

The two sets of POCIS had a standard design (PES membranes with 0.1 µm pore size and 200 mg Oasis HLB sorbent). This allows a comparison of sampler preparation techniques in different laboratories and sampling using two different sampler deployment methods (different sizes of deployment canisters). Water temperature, water velocity, pH and conductivity averaged 18.2°C, 0.1 m.s⁻¹, 7.7 and 1187 µS.cm⁻¹, respectively. One field blank for each set of POCIS was used to check that no significant contamination occurred. All samplers were transported on ice and stored frozen until extraction.

Composite water samples were extracted and analyzed by a central laboratory in order to compare estimated water concentrations from passive sampling results, and measured water concentrations (Vrana et al. 2012).

LC-MS/MS Analysis

All analyses were performed by liquid-phase chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with electrospray ionization (ESI) source operated in negative ion mode. Samples from the laboratory calibration were injected on an Agilent Infinity 1290 LC system coupled to an Agilent 6460 mass spectrometer (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). Analytes were separated chromatographically on a C₁₈ Zorbax Eclipse Plus column (100 x 2.1 mm, 1.8 µm particle size). The column was kept at 35°C and 5 µL of sample were injected in the chromatographic system.

Samples from the pilot study and from the NORMAN interlaboratory study were analyzed on a TSQ Quantum LC-MS/MS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). Analytes were separated chromatographically on a C₁₈ BDS Hypersil column (100 x 2.1 mm, 3 µm particle size). The column was kept at 35°C and 50 µL of sample were injected in the chromatographic system.

Mobile phases were: A - Ultrapure water + 0.1% formic acid and B - Acetonitrile + 0.1% formic acid, at a flow rate of 0.4 mL.min⁻¹ on the first instrument, and 0.2 mL.min⁻¹ on the second one. The run times on both instruments were 13 and 26 minutes, respectively.

¹ <http://www.bvk.cz/en/about-company/waste-water-treatment/brno-modrice-wwtp/>

Both LC-MS/MS instruments were operated in negative ion mode using multiple-reaction monitoring (MRM) for the transition ions listed in table 1. All other MS/MS parameters for both instruments are also reported in table 1.

Table 1 – Mass spectrometric parameters for the analysis of PFCs

	Compound	Quantification transition	Collision energy (V)	Confirmation transition	Collision energy (V)	Capillary voltage (V)
MS/MS parameters on Agilent 6460	PFOS	498.9 > 79.9	60	498.9 > 98.9	44	2750
	PFOA	413.0 > 368.9	4	413.0 > 168.9	12	
	¹³ C ₄ -PFOS	502.9 > 79.9	60			
	¹³ C ₄ -PFOA	416.9 > 371.9	4			
MS/MS parameters on TSQ Quantum	PFOS	498.8 > 79.8	39	498.8 > 498.8	10	3 000
	PFOA	368.8 > 168.8	21	412.7 > 368.8	20	
	¹³ C ₄ -PFOS	502.8 > 79.8	42			
	¹³ C ₄ -PFOA	371.8 > 168.7	27			

QA/QC issues

Blank contamination is a crucial issue when working with PFCs. Even if the use of any Teflon material is avoided, contamination may occur particularly with PFOA. Field controls (i.e. unexposed) POCIS were employed alongside the exposed POCIS during all stages of the calibrations (preparation of samplers, deployment, storage, extraction and analysis). They were exposed to air nearby the calibration system during exposure.

In addition, procedural blanks were processed during the water extractions to account for any contamination affecting water samples. Besides, during every water or POCIS extraction session, water or HLB sorbent was spiked with PFCs to check for recovery. For example, during the laboratory calibration, recoveries of 104 and 108% were obtained for PFOA and PFOS, respectively, for a spiked water sample. Recoveries of 90 and 93% were obtained for PFOA and PFOS, respectively, for spiked HLB sorbent.

During LC-MS/MS analysis, blanks (MeOH) were regularly analyzed to ensure that no cross-contamination occurred between samples.

For both calibrations (laboratory and pilot), blank levels in unexposed POCIS and procedural water blanks were negligible (< 0.2 ng) compared to those observed in water or POCIS extracts. A low amount of PFOA (1.2 ng) was found in the blank POCIS from the organizers of NORMAN interlaboratory study. Our blank sampler did not contain any quantifiable PFOA amount. The amount in the blank from the organizers was considered negligible compared to the quantity of PFOA present in exposed POCIS (about 60 ng, see figure 6). Therefore, all samples from calibrations and on-site study were processed without any blank subtraction.

Results and discussion

Laboratory calibration results – assessment of the three membranes

Water concentrations were relatively constant during the whole calibration. Mean concentrations of the 20 daily samples are presented on figure 2. PFOS concentration (sum of linear and branched isomers) was well below the nominal value of $1 \mu\text{g.L}^{-1}$. It was also the case for PFOA, but to a lower extent. This may be due to adsorption of PFCs to glass walls or to silicone joints in the tanks.

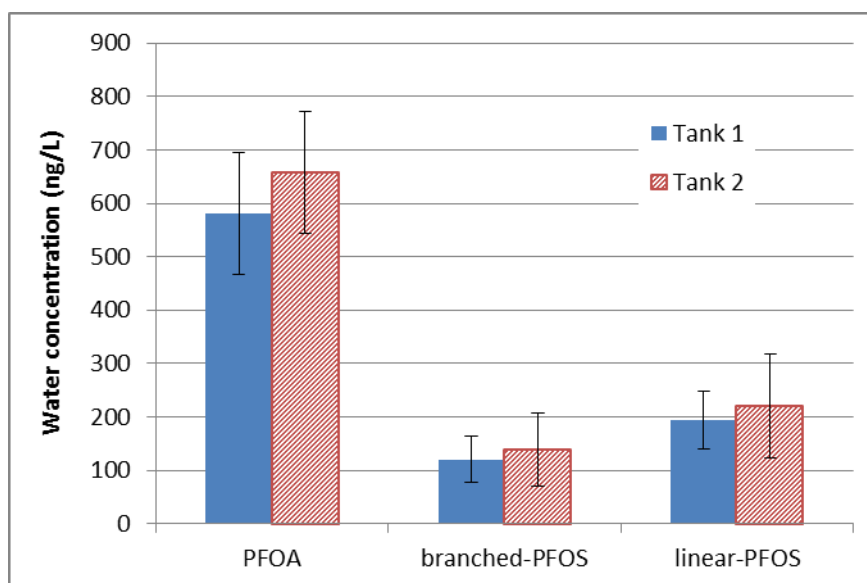


Figure 2 – Mean water concentration of PFCs during the laboratory calibration (n = 20)

Accumulation of branched-PFOS in the three types of POCIS is shown on figure 3 as an example. This experiment was carried out with one replicate for each exposure time for nylon and PC membranes for practical reasons. Therefore, no standard deviations could be provided for the accumulation with these membranes.

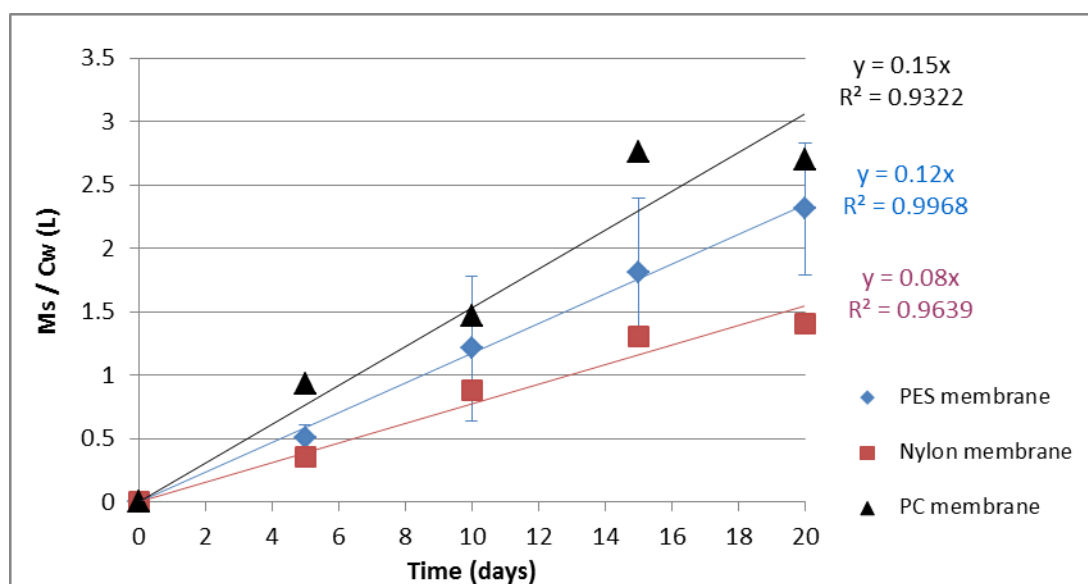


Figure 3 – Branched-PFOS accumulation in the POCIS with the three types of membranes (error bars indicate standard deviations obtained for PES membranes, $n = 3$)

Linear regressions were conducted over the whole exposure period (20 days), assuming that samplers were far from equilibrium. Sampling rates were obtained for all PFCs and membranes (Table 2). Overall, satisfactory linearities were obtained for all target compounds and membranes (R^2 in table 2), especially taking into account the lack of replicates with nylon and PC membranes. PES and PC membranes provided very similar sampling rates, but linearity was somewhat better with the PES membrane.

Table 2 – Sampling rates for PFCs with PES, nylon and PC membrane

	PES membrane		Nylon membrane		PC membrane	
	R_s (L.day ⁻¹)	R^2	R_s (L.day ⁻¹)	R^2	R_s (L.day ⁻¹)	R^2
PFOA	0.21	0.9151	0.10	0.9508	0.22	0.8270
Branched-PFOS	0.12	0.9968	0.08	0.9639	0.15	0.9322
Linear-PFOS	0.16	0.9904	0.11	0.9914	0.20	0.8494

It also turned out that branched and linear-PFOS have close sampling rates, which means that uptake kinetics are almost similar whatever the structure of this molecule. Besides, Fedorova et al. (2013) estimated the PFOS sampling rate to 0.22 L.day⁻¹ with a standard POCIS configuration, which is quite in the same range as what was determined with PES membranes in the present study.

Membranes from samplers exposed for various durations were also extracted. The amounts accumulated in the membranes were approximately constant over time for the three membrane types. A relative comparison with the amounts accumulated in the HLB sorbent stands on figure 4. Except for PFOS in the PES membrane, a very low quantity (less than 20% of the total amount) of PFCs was sampled by the membrane.

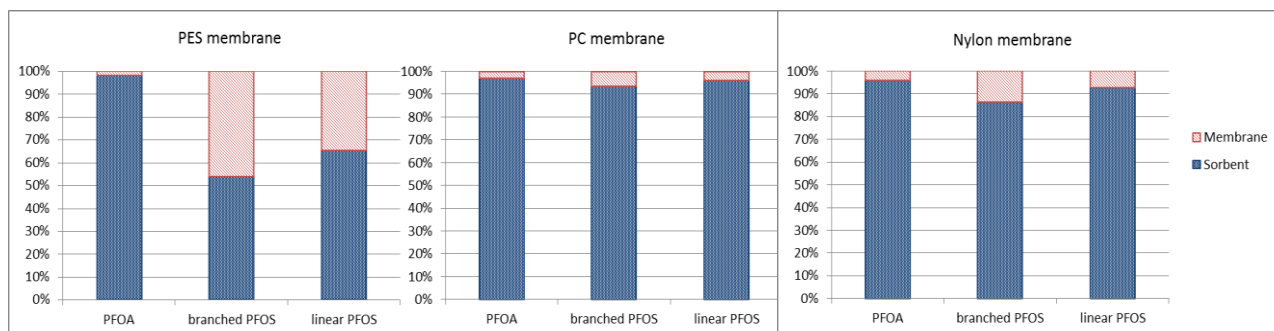


Figure 4 – Distribution of PFCs between the three types of membranes and HLB sorbent after a 20 day exposure in spiked tap water

In fact, both linear and branched PFOS isomers behaved in a similar way regarding the accumulation in the PES membrane, and this phenomenon did not occur with another type of membrane. This suggests that PFOS has some particular affinity towards the PES material, which leads to a significant amount sorbed to the membrane compared to the receiving phase. This particular behavior did not have any impact on uptake linearity when exposed in tap water. Similar observations have already been made by Vermeirssen et al. (2012) with diuron, but unfortunately no explanation was provided by the authors. This result also highlights the diversity of compartments and mass transfer phenomena that are involved in the sampling process, as suggested by Belles et al. (2013).

Pilot calibration results – calibration in environmentally relevant conditions

Physico-chemical parameters were stable over exposure time. Mean values with associated standard deviation and relative standard deviation (RSD) values (%) stand in table 3.

Table 3 – Physico-chemical parameters measured in exposure water during the calibration at pilot scale (n = 15)

	Temperature	pH	Conductivity	Turbidity
Mean value	20.2°C	7.6	1155 $\mu\text{S cm}^{-1}$	10.1 NTU
Standard deviation	1.3°C	0.1	36 $\mu\text{S cm}^{-1}$	3.1 NTU
RSD	6 %	2 %	3 %	31 %

Water concentrations were relatively constant during the whole calibration. Mean water concentrations reached $424 \pm 123 \text{ ng.L}^{-1}$ and $344 \pm 124 \text{ ng.L}^{-1}$ for PFOA and PFOS, respectively (n = 20). Concentrations were significantly lower than the nominal value of $1 \mu\text{g.L}^{-1}$, suggesting sorption of PFCs to the material used during the calibration.

The accumulation of PFOA was linear over 20 days when exposed to treated wastewater (figure 5). PFOS accumulated with a slight lag-effect of about 3 days. This result can be linked to the affinity of this compound towards the PES membrane (figure 4), which may slow down mass transfer processes during the early days of exposure. The equilibrium was achieved after 17 days for PFOS whereas the uptake was still linear for PFOA. The equilibrium was reached quicker for PFOS during the pilot experiment than in the laboratory. This behavior may be due to the presence of organic compounds (dissolved organic matter for example) in treated wastewater that compete with target analytes for the sorption sites on the sampler sorbent, and that were not present in tap water. Bailly et

al. (2013) already highlighted this phenomenon: linear uptake phase of pharmaceuticals was significantly shorter in hospital raw wastewater than in tap water.

Linear regressions only covered the linear period, i.e. until the 17th exposure day for PFOS and until the 20th exposure day for PFOA. Sampling rates of 0.18 L.day⁻¹ and 0.34 L.day⁻¹ were obtained for PFOA and PFOS, respectively. PFOA sampling rate is very close to the value determined in the laboratory in tap water (0.21 L/day). PFOS sampling rate is significantly higher than what was obtained in tap water (0.14 L/day on average for both isomers). This result is probably due to the difference between both matrices. The presence of particular substances in wastewater and not in tap water, maybe by stabilising the negative charge of PFOS, might be the cause of the enhanced accumulation of this molecule in POCIS exposed in treated wastewater. Li et al. (2011) tested different pHs (3, 7 and 9) and obtained higher sampling rates when target compounds were in neutral form, which supports our observation concerning PFOS.

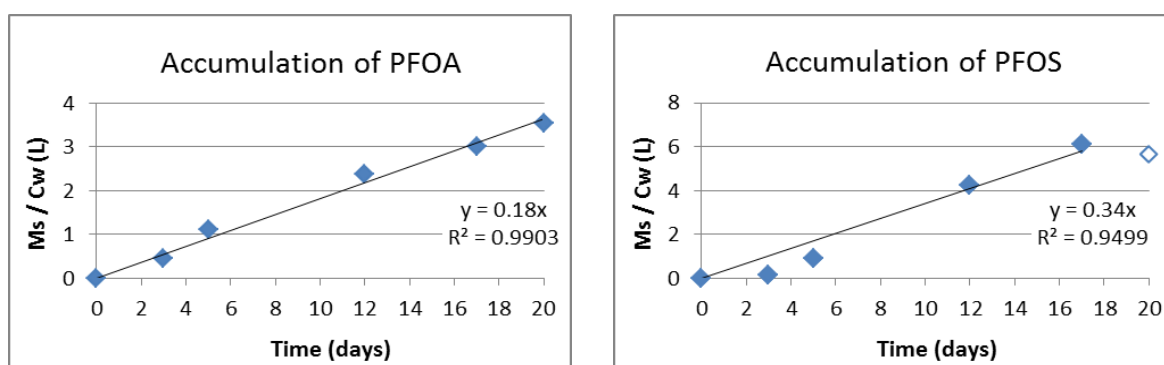


Figure 5 – Concentration factors of PFOA and PFOS in POCIS exposed in spiked wastewater

Field study – exposure in Brno WWTP outflow

The PFOA and PFOS amounts that were accumulated both in participant and organizer samplers are presented on figure 6.

About 60 ng of PFOA and 10 ng of PFOS were sampled during the exposure period. The amounts accumulated in the two sets of exposed samplers are in good agreement for both compounds. This suggests that the difference that might exist between the two POCIS preparation techniques and exposure devices (e.g. size of deployment canister) does not imply a significant variation of the accumulated amounts. These amounts are in agreement with what other participants reported (Vrana et al. 2012).

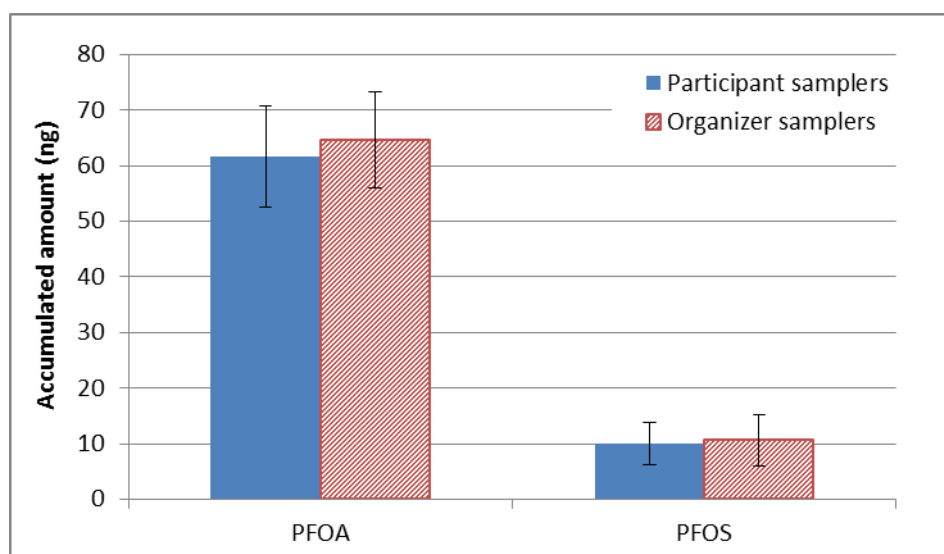


Figure 6 – Amounts of PFCs accumulated in participant and organizer POCIS after a two-week exposure in a WWTP outflow (n = 3)

Assuming that equilibrium is not reached before the end of the 14-day exposure period, the mean water concentrations can be calculated with the sampling rates determined both during the laboratory calibration and the pilot calibration (Equation 1).

PFOA and PFOS water concentrations both measured in composite samples and calculated from passive sampling results are presented in table 4.

Table 4 – Comparison between measured PFC concentrations and concentrations estimated with passive sampling (bold values indicate sampling rates determined during the pilot calibration and estimated water concentrations, whereas italic values indicate laboratory derived sampling rates and estimated water concentrations).

	Amounts sampled by POCIS (ng)	Exposure duration (days)	Sampling rates (L.day ⁻¹)	Water concentrations estimated with POCIS (ng.L ⁻¹)	Water concentrations measured by the central laboratory in composite water samples (ng.L ⁻¹)
PFOA	61	14.028	<i>0.21</i>	<i>21</i>	32
			0.18	24	
PFOS	10	14.028	<i>0.14</i>	<i>5</i>	7
			0.34	2	

PFOA water concentrations calculated from POCIS results (21 and 24 ng.L⁻¹ with laboratory and pilot sampling rate, respectively) were in a very good agreement with concentrations measured in composite water samples from Brno WWTP outflow (32 ng.L⁻¹). Despite the potentially important differences between all experimental conditions (water velocity, matrix...), for this compound, both laboratory-derived and pilot-derived sampling rates were successfully used to provide an accurate measurement of PFOA water concentrations.

Concerning PFOS, concentrations estimated with passive sampling (5 and 2 ng.L⁻¹ with laboratory and pilot sampling rate, respectively) were slightly lower than measured water concentration (7 ng.L⁻¹). Nevertheless, both values are in the same range and this result can be considered as satisfactory

particularly taking into account the high analytical uncertainty associated with such low concentrations, and the filtration blank concentration (around 1 ng.L⁻¹).

PFC sampling rate data are scarce in the literature; therefore only two participants reported water concentration estimates. As they did not use standard POCIS, it is not possible to assess our water concentration estimates compared to other participants.

Conclusions

The present study indicates that POCIS may be of high interest to monitor PFCs with other polar organic chemicals. Calibration was first carried out in the laboratory using tap water. This experiment enabled to calculate sampling rates and to assess three types of membranes: PES, polycarbonate and nylon. The standard design with PES membranes proved valuable both in terms of linearity and amount of compounds sampled. Although significant amounts of PFOS were accumulated in the PES membrane, it did not have any visible impact on uptake linearity when POCIS were exposed in tap water.

The calibration at pilot scale with treated wastewater provided a sampling rate for PFOA within the same range as the laboratory value, in spite of all differences between experimental conditions. Field deployment in a WWTP outflow proved that POCIS can be implemented on-site to monitor various chemicals including PFCs. Both sets (i.e. provided and home-made) samplers exhibited a good agreement, thus showing the robustness of POCIS fabrication and deployment techniques. Concentrations in the effluent could be estimated from the passive sampling results and were consistent with measured water concentrations.

Further work dealing with PFC uptake into POCIS is obviously needed in order to gain acceptance of the use of POCIS within global monitoring programs including PFCs. However quantitative data are still missing, among which reliable estimates of the duration of the linear uptake phase within various matrices, or the HLB capacity for PFOS and PFOA. For this purpose, adsorption isotherm studies may be of high interest to further investigate sorption processes. Besides, future studies with POCIS could systematically include an extraction of the membranes so as to enrich the current knowledge on its role during mass transfer.

Acknowledgements

The Aquitaine Region and the European Union (CPER A2E project) are acknowledged for their financial support. “Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund”.

The NORMAN Network is acknowledged for allowing the use of their interlaboratory study results. DG JRC is acknowledged for the analysis of the composite water samples of the interlaboratory study.

The ANRT is acknowledged for the PhD grant. This study has been carried out in the framework of the Cluster of Excellence COTE.

Publication n°3 : Changes in POCIS design in order to sample a broad range of polar organic compounds

Changes in POCIS design in order to sample a broad range of polar organic compounds

Perrine WUND^{1,2}, Gaëla LEROY², Valérie INGRAND² and Hélène BUDZINSKI¹

¹ Univ. Bordeaux, EPOC-LPTC, UMR 5805, 351 cours de la Libération, 33405 Talence, France

² Veolia Environnement Recherche et Innovation, Centre de Recherche de Saint Maurice, Immeuble « Le Dufy », 1 place de Turenne, 94417 Saint Maurice Cedex, France

Corresponding author: Hélène BUDZINSKI h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr
+33 (0) 5 40 00 69 98

Abstract

Within the framework of increasing regulation concerning organic micropollutants, passive sampling tools that enable to trap a broad range of molecules are of interest. Several tracer compounds were selected in various classes including pesticides, steroid hormones, pharmaceuticals and perfluorinated compounds. The performance of several POCIS configurations regarding selected compounds was assessed, both in terms of linearity and amount of compound sampled. Three types of membranes were tested: PES, Nylon and Polycarbonate and seven sorbents. Preliminary batch experiments led to the selection of the most promising sorbent (mixture of HLB and SDB sorbents) which was further investigated during a laboratory calibration.

The classical POCIS configuration with PES membranes and HLB sorbent proved absolutely valuable, except in very specific situations. For example, the mixture of HLB and SDB sorbents enabled to better retain very polar molecules like DEDIA. Nylon membranes can be of interest in a study where target compounds are relatively hydrophobic ($\log K_{ow} > 4.5$).

After the laboratory calibration, all membranes were solvent extracted. Negligible amounts were extracted from Nylon and Polycarbonate membranes ($< 10\%$), whereas up to 50% of the total mass of DEDIA, diuron and mestranol sampled was recovered from the PES membranes. The behavior of diuron was especially striking because it accumulated linearly in the PES membranes with no impact on uptake linearity in the sorbent. Besides, no straightforward explanation based on the physico-chemical properties of diuron could account for this particular behavior. This result highlights the need for further studies to improve the current knowledge on mass transfer through the PES membrane.

Keywords

POCIS, passive sampling, membrane, calibration, water

Introduction

Water pollution from emerging contaminants is one of the important stakes of current environmental research. Various compound classes are of concern such as pesticides, pharmaceuticals, steroid hormones, perfluorinated compounds...

Water concentrations of polar organic compounds may fluctuate over time, therefore depending on the sampling moment, spot water sampling may not be completely representative of the actual concentration (Gerecke et al. 2002). Passive sampling can be an alternative approach that provides a more accurate image of the contamination. It also mimics to some extent biological uptake while being easy to handle and cost-effective (Seethapathy et al. 2008; Vrana et al. 2005).

It has been shown that Polar Organic Chemical Integrative Samplers (POCIS) successfully accumulate various polar compounds such as pharmaceuticals, polar pesticides, steroid hormones and alkylphenols (Alvarez et al. 2005; Arditoglou et Voutsas 2008; Mazzella et al. 2007; Togola et Budzinski 2007). This passive sampler contains HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balanced) sorbent in its "Pharm" configuration, enclosed between two polyethersulfone (PES) membranes. One main advantage of this passive sampling device lies in its versatility. In fact, both sorbent and membrane can be easily modified in order to optimize its properties (Alvarez et al. 2004; Fauvelle et al. 2012; Kaserzon et al. 2012; Belles et al. 2013).

POCIS is of interest to make a global monitoring of various polar compounds in water. However, most studies provide data for one specific class of compounds, without considering its multi-residue potential.

In this study, several tracer compounds were chosen in various classes including pesticides (atrazine and its metabolites : desethyl-desisopropylatrazine or DEDIA, desisopropylatrazine or DIA, desethylatrazine or DEA, hydroxyatrazine, diuron, metolachlor), steroid hormones (estrone, α -estradiol, β -estradiol, ethinylestradiol, estriol, mestranol, progesterone, testosterone, norethindrone, levonorgestrel), pharmaceuticals (carbamazepine, bezafibrate, diclofenac and sulfamethoxazole) and perfluorinated compounds (perfluorooctanoic acid or PFOA and perfluorooctane-sulfonate or PFOS), in order to cover a broad range of physicochemical properties. The performance of several POCIS configurations was tested regarding selected compounds, in terms of linearity and amount of compound sampled. Three types of membranes were assessed: PES, Nylon and Polycarbonate (PC), and seven sorbents : Oasis HLB, activated carbon, Sordolit III, C₁₈ material, Diaion HP20, SDB-1 and a mixture of HLB and SDB-1 (50/50 w/w).

First of all, sorbents were spiked with target compounds so as to determine an extraction recovery.

Then, increasing volumes of spiked water were percolated on the sorbents that gave satisfactory results after the first stage. Finally, a calibration was performed in the laboratory with the most promising sorbents, and with the three membrane types. All membranes were also solvent extracted to quantify the amounts trapped in the membrane and improve the understanding of the role of the membrane in the mass transfer process.

Experimental section

Materials and chemicals

Methanol (MeOH) and acetonitrile (ACN) from JT Baker were provided by Atlantic Labo (Bruges, France). Dichloromethane (DCM) from Acros was provided by Fisher Scientific (Illkirch, France). Ultra-pure water was produced with a Millipore BioPak ultrafiltration cartridge. Formic acid of “Baker analysed” grade was provided by Atlantic Labo (Bruges, France).

Analytical standards of pesticides were provided by Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Pharmaceuticals, perfluorinated compounds (PFCs) and steroid hormones were provided by Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France), except ethinylestradiol which was purchased to Santa Cruz Biotechnology (Dallas, USA).

Following internal standards were used for quantitation purposes: atrazine d5, DIA d5, diuron d6 (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Germany), bezafibrate d6 (Alsachim, Illkirch, France), carbamazepine d10, diclofenac d4 (CDN Isotopes, distributed by Cluzeau Info Labo, Sainte-Foy-La-Grande, France), $^{13}\text{C}_6$ sulfamethoxazole (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France), 17-beta-estradiol d4, estrone d4, progesterone d9 (CDN Isotopes, distributed by Cluzeau Info Labo, Sainte-Foy-La-Grande, France), testostérone d3 (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France), $^{13}\text{C}_4$ PFOS and $^{13}\text{C}_4$ PFOA (Wellington, Guelph, Ontario, Canada).

POCIS were prepared in the laboratory using Oasis HLB bulk phase, which was purchased from Waters (Guyancourt, France).

Serdolit III (copolymer of styrene, ethylstyrene and divinylbenzene), Diaion HP 20 (copolymer of polystyrene and divinylbenzene), coconut activated charcoal and C_{18} material were provided as bulk sorbents by Sigma-Aldrich. SDB-1 (Styrene divinylbenzene) sorbent was recovered from SPE cartridges from JT Baker.

Prior to all tests, sorbents were washed with MeOH (3 times during 20 minutes) and then dried under vacuum.

Hydrophilic PES SUPOR 100 membranes (0.1 μm , 90 mm diameter) were provided by VWR International (Fontenay-sous-Bois, France). Nylon and PC membranes with the same specifications as PES membranes were provided by Fisher Scientific (Illkirch, France).

Oasis HLB cartridges (6 mL, 200 mg) were purchased from Waters (Guyancourt, France). 6 mL Polypropylene (PP) empty cartridges with Polyethylene (PE) frits were purchased from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France).

Water, POCIS and membranes extraction

Water was collected and stored both in glass and High-Density Polyethylene (HDPE) bottles. Preliminary stability studies have shown that some apolar steroid hormones like mestranol or progesterone may sorb to HDPE bottles. Moreover, the use of glass bottles for PFCs should be avoided (Martin et al. 2004). Therefore, samples stored in glass bottles were extracted and analyzed for pesticides, steroid hormones and pharmaceuticals (positive ionization mode, see table 1) and

samples stored in HDPE bottles were extracted and analyzed for PFCs (negative ionization mode, see table 1).

Both water sample types underwent the same extraction protocol: 50 mL were spiked with internal standards (20 ng) and extracted on Oasis HLB cartridges (6 mL, 200 mg). Cartridges were first conditioned with 5 mL MeOH and 5 mL mineral water (Vittel, France). After loading of the sample and drying of the cartridge under vacuum, analytes were recovered with 5 mL MeOH, 5 mL MeOH/DCM (50/50) and 5 mL DCM. This solvent mixture gave satisfactory recoveries on spiked water samples (between 65% and 112% for all compounds). The highly polar DEDIA exhibited a low recovery (about 40%) which is due to its breakthrough volume on HLB sorbent. Extracts were evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen (purity higher than 99.995%, supplied by Linde Gas, Saint-Priest, France) and transferred into injection vials in 150 μ L MeOH and 150 μ L ultra-pure water.

After exposure, POCIS were disassembled and the sorbent was carefully transferred with mineral water (Vittel, France) into PP cartridges fitted with PE frits. The cartridges were dried under vacuum for about one hour and eluted as described above for water samples. 40 ng of internal standards were added in the extracts, which were then evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen and transferred into injection vials using 150 μ L MeOH and 150 μ L ultra-pure water.

During the calibration, the three types of membranes were also extracted in order to better understand transport mechanisms between water and sorbent. The two membranes of a POCIS were folded and placed in a 22 mL vial. 20 mL of MeOH were added and vials were put in an ultrasonic bath during 20 minutes. Membranes were removed and extracts were spiked with 20 ng of internal standards, before being evaporated and taken up as described above.

Desorption tests

In order to assess recoveries with the various sorbents, 50 μ L of a methanolic solution of target compounds was added onto 200 mg of sorbents placed in empty SPE cartridges fitted with PE frits, resulting in a 200 ng spike per compound. Serdolit, Diaion HP 20, coconut activated charcoal and C₁₈ material were tested in triplicates.

Once the methanol had evaporated, the second frit was placed above the sorbent. Cartridges were then eluted with 5 mL MeOH, 5 mL MeOH/DCM (50/50) and 5 mL DCM.

300 ng of internal standards were added in the extracts, which were evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen and transferred into injection vials using 150 μ L MeOH and 150 μ L ultra-pure water.

Recoveries were calculated as the amount recovered divided by the theoretical amount added at the beginning of the protocol.

Breakthrough volume determination

Cartridges were first conditioned with 5 mL MeOH and 5 mL mineral water (Vittel, France).

Increasing volumes (20 – 100 – 200 – 500 mL) of mineral water (Vittel, France) were spiked with approximately 10 ng of each compound and percolated through cartridges prepared with the sorbents. Different sorbent amounts were used to pack the cartridges, based on the experience of solid-phase

extraction in the laboratory: 200 mg of HLB, SDB and the mixture of HLB-SDB (50/50 w/w), 1 g of C₁₈ material, and 500 mg of Diaion HP20.

Cartridges were then eluted with 5 mL MeOH, 5 mL MeOH/DCM (50/50) and 5 mL DCM.

Concurrently, triplicates of reference solutions were prepared with the solvent mixture used for elution i.e. 7.5 mL MeOH and 7.5 mL DCM, which was then spiked with the same amount of compounds.

Both sets of samples (i.e. percolated and reference extracts) underwent the same protocol: evaporation to dryness under a gentle stream of nitrogen, and transfer to an injection vial with 150 µL MeOH and 150 µL ultra-pure water.

Recoveries were calculated as the area of the compound in the percolated sample divided by the area of the same compound in the reference mixture. As both sets of samples were subjected to evaporation and transfer, any potential loss during these steps was corrected.

POCIS calibration

Perfluorinated compounds (PFCs) are analytically challenging and were initially not a crucial part of the study therefore they were only included in the scope of the project after initial sorbent selection.

The flow-through calibration system that was used to calibrate the POCIS is presented in details elsewhere. Briefly, POCIS were exposed in two 27L tanks where water was fed at a flow rate of 8.6 L/day and mixed at 45 rpm by an overhead stirrer. Target analytes were dissolved in MeOH (0.1 mg/L), this spiking solution was injected into the tanks at a 80 mL/day flow rate, resulting in a nominal concentration of about 1 µg/L. Actual water concentrations were assessed experimentally. Daily water samples were collected from both tanks in glass and HDPE bottles and stored frozen until extraction.

Three different types of membranes were tested: PES, Nylon and PC, all with 0.1 µm pores. Two types of sorbents were assessed: 200 mg HLB and 200 mg of a mixture of HLB and SDB1 sorbents (50/50 w/w). The latter configuration was referred to as “HLB-SDB”.

PES-POCIS were deployed in triplicate in the first tank and retrieved after 5, 10, 15 and 20 days of exposure. One Nylon-POCIS, one PC-POCIS and one HLB-SDB POCIS were collected from the second tank at the same times.

After POCIS were collected, they were wrapped in aluminum foil and stored frozen in hermetically closed freezer bags until extraction.

Sampling rate calculation

The calculation of sampling rates has already been described in details elsewhere (Vrana et al. 2005). Briefly, assuming that the POCIS are in linear uptake regime, the sampling rate (R_s , in L.day⁻¹) links the mass sampled by the POCIS (M_s , in ng) to the time-weighted average (TWA) water concentration (C_w , in ng.L⁻¹) and time (t , in days), according to:

$$M_s = R_s C_w t \quad (1)$$

POCIS were exposed during various durations up to 20 days, and the concentration factor M_s / C_w was plotted against time. Data was fitted with a linear regression and the sampling rate could be deduced from its slope.

LC-MS/MS analysis

All analyses were performed by liquid-phase chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with an electrospray ionization (ESI) source operated both in positive and negative ion mode. Samples were injected on an Agilent Infinity 1290 LC system coupled to an Agilent 6460 mass spectrometer (Agilent, Santa Clara, USA). Analytes were separated chromatographically on a C₁₈ Zorbax Eclipse Plus column (100 x 2.1 mm, 1.8 µm particle size). The column was kept at 35°C and 5 µL of sample were injected in the chromatographic system.

Each sample was injected twice: a first run in negative ionization mode for the analysis of PFCs (13 minutes) and a second run in positive ionization mode for the analysis of pesticides, pharmaceuticals and steroid hormones (15 minutes).

Mobile phases were: A - Ultrapure water + 0.1% formic acid and B - Acetonitrile + 0.1% formic acid, at a flow rate of 0.4 mL/min. In positive ionization mode, the elution gradient program was as follows: the column was equilibrated using 100% A, the gradient was then increased to 100% B within 11 minutes and held at 100% B for 0.5 min, before returning to the initial conditions at 12.5 min. The column was then equilibrated with 100% A until 15 minutes. The elution gradient program was almost similar in negative ionization mode but the increase in B ratio was sharper with 100% B reached within 9 minutes.

The LC-MS/MS instrument was operated using multiple-reaction monitoring (MRM) for the transition ions listed in table 1.

Table 1 – Mass spectrometric parameters for the analysis of pesticides, pharmaceuticals, steroid hormones and perfluorinated compounds on Agilent 6460 mass spectrometer

Compound	Parent ion	Product ion (quantification)	Collision energy (V)	Product ion (confirmation)	Collision energy (V)	Fragmentor (V)	Ionisation mode
Atrazine	216.1	174.0	12	68.0	40	109	ESI+
<i>Atrazine d5</i>	221.1	179.0	16	-	-	116	ESI+
DEA	188.1	146.0	12	43.1	40	103	ESI+
DEDIA	146.0	43.1	32	68.0	20	99	ESI+
DIA	174.1	68.0	32	96.0	16	119	ESI+
<i>DIA d5</i>	179.1	101.0	16	-	-	119	ESI+
Diuron	233.0	72.0	16	46.1	12	114	ESI+
<i>Diuron d6</i>	239.1	78.0	24	-	-	109	ESI+
Hydroxyatrazine	198.1	156.0	12	86.0	20	132	ESI+
Metolachlor	284.1	176.1	24	252.0	12	97	ESI+
Bezafibrate	362.1	316.0	8	138.9	24	104	ESI+
<i>Bezafibrate d6</i>	368.2	138.9	24	-	-	104	ESI+
Carbamazepine	237.1	194.0	14	192.0	20	120	ESI+
<i>Carbamazepine d10</i>	247.1	204.1	16	-	-	119	ESI+
Diclofenac	296.0	214.0	32	277.9	4	92	ESI+
<i>Diclofenac d4</i>	300.1	218.0	32	-	-	87	ESI+
Sulfamethoxazole	254.1	156.0	8	92.0	24	99	ESI+
<i>Sulfamethoxazole ¹³C₆</i>	260.1	98.0	24	-	-	94	ESI+
Ethinylestradiol	279.2	133.0	12	159.0	20	109	ESI+

Compound	Parent ion	Product ion (quantification)	Collision energy (V)	Product ion (confirmation)	Collision energy (V)	Fragmentor (V)	Ionisation mode
Levonorgestrel	313.2	109.1	28	91.0	54	121	ESI+
Mestranol	293.2	147.1	16	172.5	16	119	ESI+
Norethindrone	299.2	109.0	28	91.0	48	141	ESI+
17-alpha-Estradiol	255.2	159.0	12	133.0	20	87	ESI+
17-beta-Estradiol	255.2	159.0	12	133.0	20	87	ESI+
17-beta-Estradiol d4	259.2	161.1	16	-	-	84	ESI+
Estriol	271.1	253.1	4	133.0	24	79	ESI+
Estrone	271.2	253.1	8	133.0	20	79	ESI+
Estrone d4	275.2	257.1	8	-	-	72	ESI+
Progesterone	315.2	97.0	24	109.0	24	109	ESI+
Progesterone d9	324.3	100.1	20	-	-	141	ESI+
Testosterone	289.2	97.0	24	109.0	20	126	ESI+
Testosterone d3	292.2	97.0	20	-	-	111	ESI+
PFOA	413.0	368.9	4	168.9	12	82	ESI-
¹³ C ₄ -PFOA	416.9	371.9	4	-	-	82	ESI-
PFOS	498.9	79.9	60	98.9	44	188	ESI-
¹³ C ₄ -PFOS	502.9	79.9	60	-	-	188	ESI-

Results and discussion

Desorption tests

Satisfactory recoveries were obtained (above 70% for pesticides and steroid hormones, and above 50% for pharmaceuticals) with Serdolit III, Diaion HP 20 and C₁₈ material. These three sorbents gave very similar results regarding desorption of target compounds. On the other hand, recoveries with activated carbon were poor, from 12% up to 68% for pesticides, from 33% up to 70% for steroid hormones, and from 5% up to 22% for pharmaceuticals. This sorbent was therefore excluded of further studies. In fact, the strong retention capacity of this adsorbent can be linked to its widespread use in water treatment processes when high quality of the water is required (Ormad et al. 2008; Petrović et al. 2003).

Breakthrough volume determination

Increasing volumes of spiked water were percolated on Oasis HLB (200 mg), C₁₈ material (1 g), SDB 1 (200 mg), Diaion HP20 (500 mg) and the mixture of SDB and HLB (200 mg, 50/50 w/w). Detailed results are provided in Supplementary information. Results for Oasis HLB and the mixture HLB-SDB are presented on figure 1.

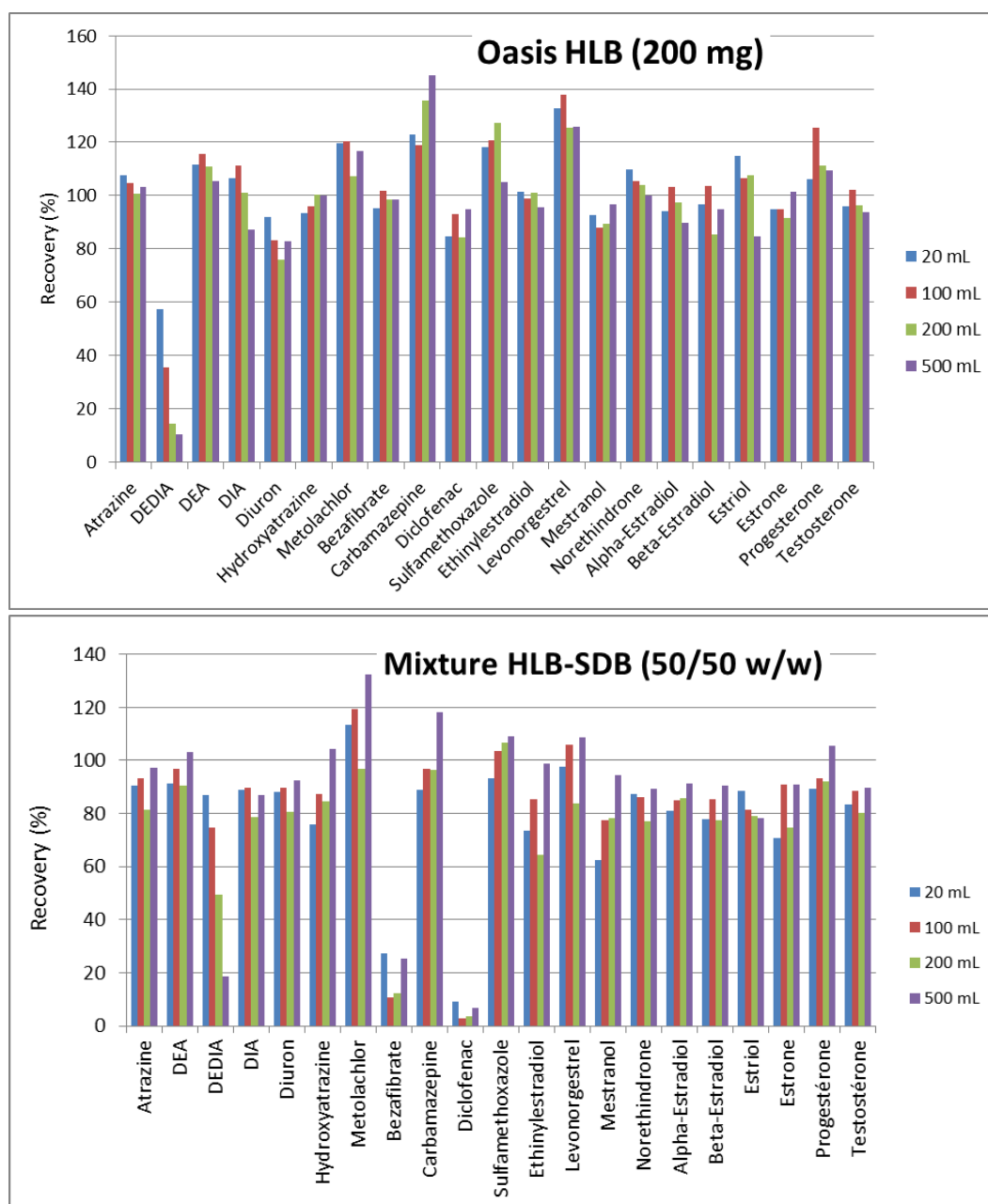


Figure 1 – Recoveries with increasing volumes of spiked water percolated on Oasis HLB and HLB-SDB sorbents (n = 1)

Satisfactory recoveries were obtained with Oasis HLB for all compounds except DEDIA. This highly polar compound ($\log K_{ow}$ around 0) exhibited a very low breakthrough volume. For example, with 20 mL water, recovery was only around 60% and with 200 mL it dropped below 20%.

This breakthrough volume was much higher with SDB sorbent alone (see Supplementary information), but other compounds like diclofenac and bezafibrate were not sorbed to this solid phase. This is the reason why the mixture of HLB and SDB sorbents was tested. An increase in DEDIA breakthrough volume was hoped, as well as satisfactory affinity for diclofenac and bezafibrate.

In fact, a significant increase in DEDIA breakthrough volume was noticed, with recoveries higher than 70% up to 100 mL of water percolated on this mixture of sorbent. Whatever the water volume

percolated on HLB-SDB sorbent, very low recoveries were obtained for diclofenac and bezafibrate. This result is surprising because the mixture of sorbents contained 100 mg Oasis HLB and these compounds are very well retained by Oasis HLB. As very low recoveries were obtained for all water volumes i.e. all samples, any punctual analytical problem is unlikely. It can be hypothesized that the homogeneity of the mixture of HLB and SDB sorbents was perhaps imperfect, which may have resulted in preferential pathways for some of the target compounds. Unfortunately, this experiment could not be repeated and thus this result could not be further explained within the framework of this study.

POCIS calibration – water concentrations

Water concentrations were relatively constant throughout the whole calibration. Mean concentrations of the twenty water samples are presented on figure 2. Water concentrations were similar in the two tanks, which means that POCIS exposure conditions were comparable. For most compounds, the mean water concentration over the whole exposure period fits well with the nominal value of 1 µg/L. Some compounds like metolachlor, norethindrone, progesterone and PFCs have a slightly lower average concentration. This may be due to the adsorption of these more hydrophobic compounds to the glass walls or silicone joints of the tanks.

On the contrary, 17alpha-estradiol and estriol were found in higher concentrations than expected. This is most likely because of a lack of sensitivity of the analytical method. In fact, only 15 mL of water were extracted to prevent the loss of DEDIA. But with such a low volume, the limit of quantification (LOQ) was almost reached for estrogens: 250 pg of each compound were injected in the LC-MS/MS while a LOQ at 80 pg on-column was obtained for estriol as an example. This explains why the quantification of steroid hormones, and of 17alpha-estradiol and estriol in particular, is not highly accurate.

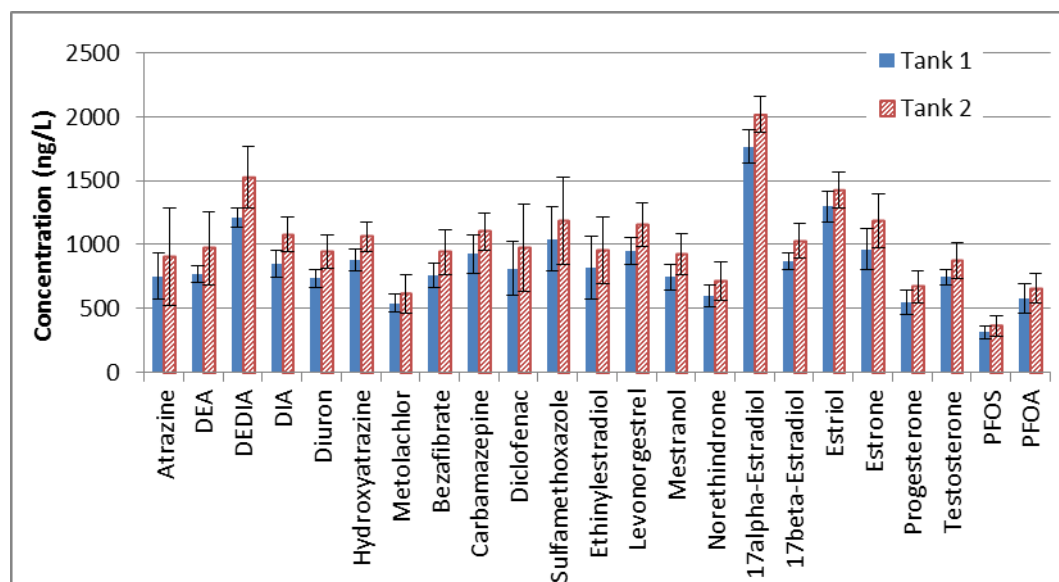


Figure 2 – Mean water concentrations in the two tanks during the calibration (n = 20)

POCIS calibration – assessment of the sorbent mixture HLB-SDB

Linear accumulation was obtained with both sorbent types: HLB and HLB-SDB (Figure 3). Sampling rates could be determined for almost all compounds for both configurations (Table 2). Rs were always higher with HLB than with the mixture SDB-HLB. For the more polar compounds (DEDIA, DIA, sulfamethoxazole), a curvilinear accumulation was observed with both POCIS designs and no sampling rates could be derived for these compounds. However, the amounts of DEDIA, DIA and sulfamethoxazole sampled by the POCIS containing SDB sorbent were higher. After twenty days of exposure, POCIS containing SDB sorbent had a 1.3 times higher concentration factor for DIA, a 2.5 times higher for DEDIA and a 4 times higher for sulfamethoxazole. This result is related to the increase of DEDIA breakthrough volume on SDB sorbent, demonstrating the better retention of polar compounds on this solid phase compared to Oasis HLB.

This alternative configuration does not enable to have a linear uptake for very polar compounds ($\log K_{ow}$ between 0 and 1.3), but it could be of great interest within the framework of qualitative studies because sensitivity of this modified device towards polar trace-level substances would be higher than classical POCIS.

POCIS calibration – assessment of the membranes

Accumulation of atrazine in PES-POCIS, Nylon-POCIS and PC-POCIS is shown on Figure 3 as an example. As this experiment was carried out with one replicate for each exposure time for Nylon and PC membranes for practical reasons, no standard deviations could be provided for the accumulation with these membranes.

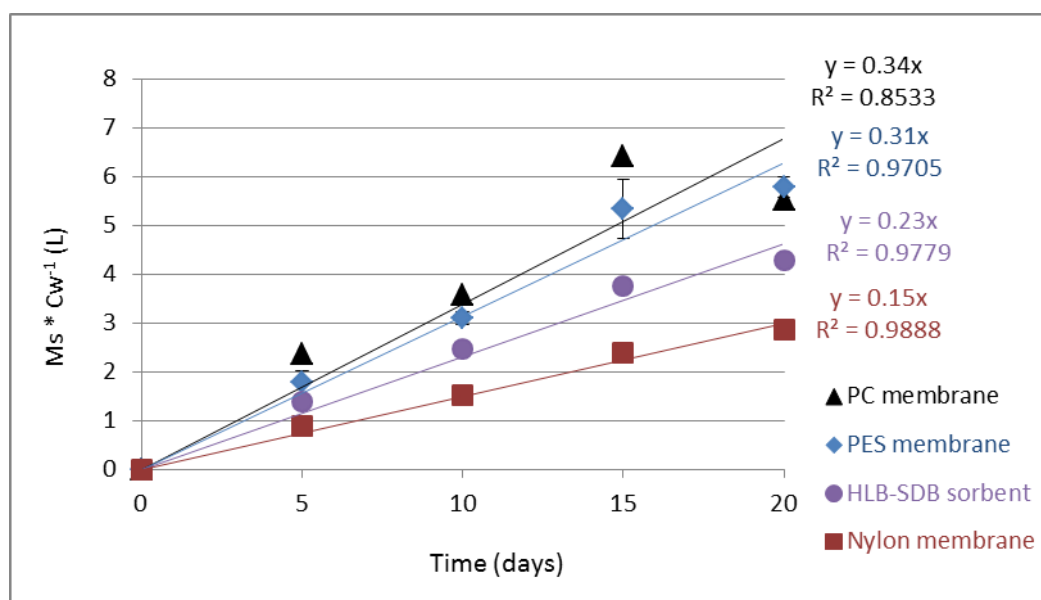


Figure 3 – Atrazine accumulation with the three types of membranes (error bars indicate standard deviation obtained for PES membrane, n = 3)

For atrazine, a linear accumulation during 20 days was obtained for the three types of membranes. The same behavior was observed for most compounds. Therefore, linear regressions could be

conducted over the whole exposure period. Resulting sampling rates for these molecules are summarized in table 2 with the associated linearity, represented by R^2 .

Table 2 – Sampling rates obtained with PES, Nylon and PC membranes and HLB-SDB sorbent

	PES membrane HLB sorbent		Nylon membrane HLB sorbent		PC membrane HLB sorbent		PES membrane SDB-HLB sorbent	
	Rs (L.day ⁻¹)	R ²	Rs (L.day ⁻¹)	R ²	Rs (L.day ⁻¹)	R ²	Rs (L.day ⁻¹)	R ²
Atrazine	0.31	0.9705	0.15	0.9888	0.34	0.8533	0.23	0.9779
DEA	0.19	0.9230	0.11	0.9434	ND	ND	0.17	0.8526
DEDIA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DIA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Diuron	0.19	0.9977	0.12	0.9358	0.24	0.8300	0.12	0.9535
Hydroxyatrazine	0.24	0.9422	0.12	0.9954	ND	ND	0.20	0.9729
Metolachlor	0.36	0.9797	0.19	0.9683	ND	ND	0.25	0.9557
Bezafibrate	0.21	0.9804	0.09	0.9789	0.21	0.802	0.11	0.9596
Carbamazepine	0.19	0.9516	0.10	0.9653	0.20	0.8177	0.14	0.8686
Diclofenac	0.23	0.9743	0.11	0.9748	0.22	0.8194	0.11	0.9454
Sulfamethoxazole	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethinylestradiol	0.14	0.9990	0.08	0.9839	ND	ND	0.08	0.9613
Levonorgestrel	0.11	0.9074	0.06	0.8707	ND	ND	ND	ND
Mestranol	0.07	0.9392	0.10	0.9550	ND	ND	0.05	0.9711
Norethindrone	0.30	0.9827	0.16	0.9390	0.32	0.8254	0.22	0.8778
17-alpha-Estradiol	0.13	0.9921	0.08	0.9824	ND	ND	0.09	0.9440
17-beta-Estradiol	0.28	0.9972	0.15	0.9801	0.28	0.8126	0.19	0.9478
Estriol	ND	ND	0.11	0.9849	0.21	0.8267	0.16	0.9236
Estrone	0.19	0.9420	0.13	0.9863	0.22	0.8484	0.17	0.9706
Progesterone	0.14	0.9785	0.08	0.9159	0.15	0.8342	0.10	0.9544
Testosterone	0.27	0.9875	0.14	0.9687	0.29	0.8362	0.19	0.9560
PFOS	0.14	0.9872	0.10	0.9880	0.18	0.8804	0.09	0.9762
PFOA	0.21	0.9151	0.10	0.9508	0.22	0.8270	0.14	0.8489

ND: sampling rates could not be estimated due to poor linearity ($R^2 < 0.8$)

For the more polar compounds (DEDIA, DIA, sulfamethoxazole), a curvilinear accumulation was observed with all POCIS designs and no sampling rates could be estimated, whatever the membrane.

PES and PC membrane provided quite close sampling rates, but linearity was significantly better with the PES membrane. Nylon membrane always provided lower sampling rates than PES membrane, except for mestranol. This molecule was the most hydrophobic among all target compounds and accumulated in the PES membranes, creating a so-called “lag-effect” during the early stages of uptake. This phenomenon has already been described for apolar compounds like alkylphenols (Harman et al. 2008) and has been attributed to the sorption of such compounds to the PES membrane. On the contrary, accumulation with Nylon membrane is linear over the 20 days for this compound.

The sampling rates found with the classical POCIS configuration (PES membrane, HLB sorbent) are in good agreement with values reported in the literature (MacLeod et al. (2007) for pharmaceuticals, Alvarez et al. (2007); Mazzella et al. (2007); Mazzella et al. (2010) for pesticides,

Arditsoglou et Voutsas (2008) for steroid hormones, and Fedorova et al. (2013) for perfluorinated compounds).

Accumulation in the membranes

Membranes from samplers exposed for various durations were also extracted. The results for PFCs are presented elsewhere. Concerning pesticides, hormones and pharmaceuticals, the amounts accumulated in Nylon and PC membranes were low for all exposure durations and did not exceed 10 % of the total amount sampled by POCIS. For most compounds, low amounts (< 25 % of the total sampled mass) were also recovered from the PES membrane (Figure 4). Significant amounts (up to 60% of the total sampled mass) of DEDIA, diuron and mestranol were sorbed to the membrane. Mass balances between sorbent and PES membranes after 20 days of exposure are presented on figure 4.

The quite high ratio for DEDIA is likely caused by its poor affinity for the HLB sorbent. Mestranol on the contrary has a high affinity for the PES membrane, which explains the lag-effect observed for this compound. But for diuron, the quite high amount sorbed to the PES membrane at the end of exposure is not easily understandable. Such an observation has already been made by Vermeirssen et al. (2012).

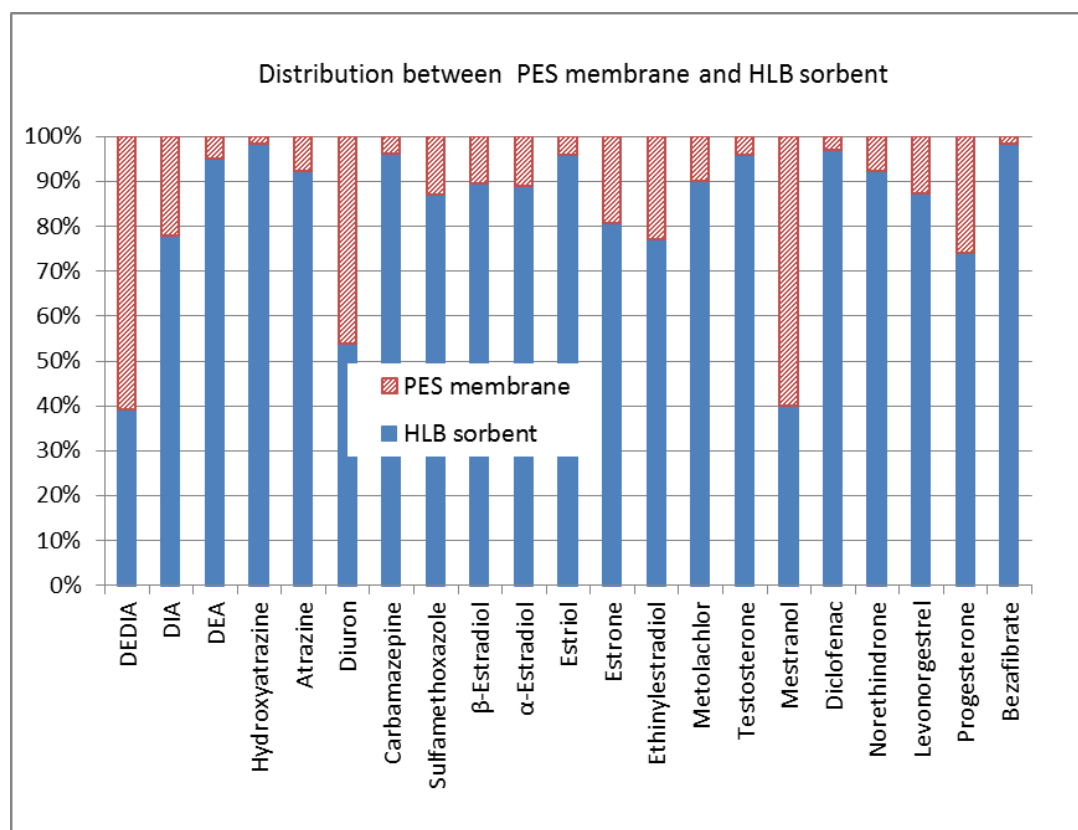


Figure 4 – Distribution of pesticides, hormones and pharmaceuticals between PES membrane and HLB sorbent from POCIS exposed for 20 days in spiked tap water

Besides, there is an increase of the concentration of diuron in the PES membrane against time (Figure 5), with no visible impact on uptake linearity ($R^2 = 0.9977$, cf. Table 2). These results suggest

that multiple mass transfer phenomena may occur simultaneously during sampling, as suggested by Belles et al. (2013). One may involve sorption of diuron to the PES membrane and another one may be based on diffusion through the membrane and accumulation into the receiving phase.

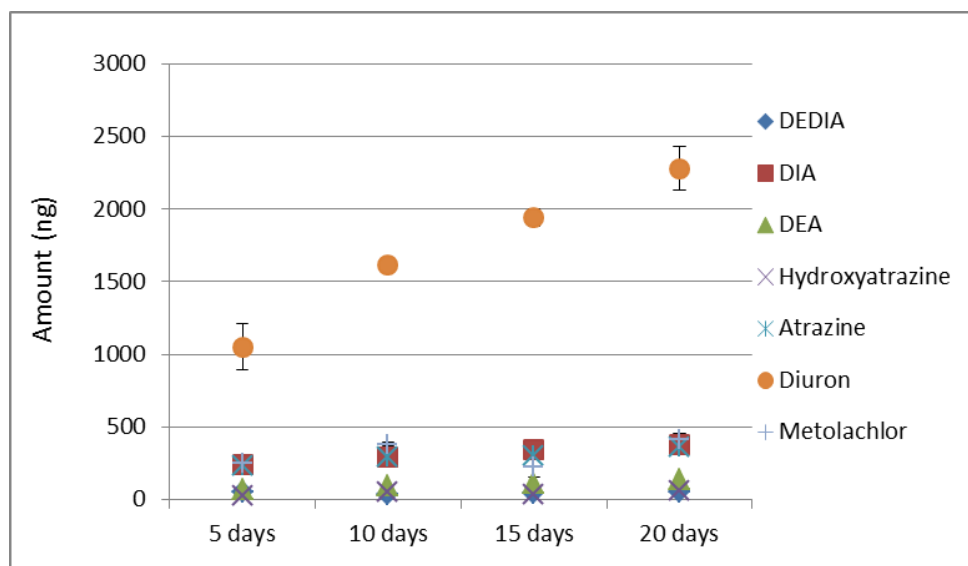


Figure 5 – Accumulation of pesticides in the PES membranes of POCIS over 20 days (n = 3)

Conclusions

Activated carbon did not appear to be a suitable sorbent for sampling purposes because very low recoveries of target analytes were obtained. Percolation of spiked water samples highlighted the potential of the mixture of SDB and HLB sorbents as a receiving phase because of its higher affinity for very polar compounds such as DEDIA.

Laboratory calibration with tap water confirmed this result, however the uptake of polar compounds was still curvilinear. The main advantage of this configuration lies in the increase of sensitivity for very polar compounds ($0 < \log K_{ow} < 1.3$). In fact, significantly higher amounts were sampled by POCIS containing SDB sorbent, making it a more sensitive tool for polar substances screening than classical POCIS. This feature could be of great interest for qualitative monitoring studies targeting polar compounds.

Nylon membranes enabled to sample linearly hydrophobic compounds, like mestranol which exhibited a lag phase over PES membranes. However, this membrane is associated with lower sampling rates i.e. lower sensitivities. PES and PC membranes provided almost equal sampling rates, but with a significantly better linearity, the classical configuration with PES membranes proved definitely valuable.

Therefore, the traditional POCIS configuration gives satisfactory results, but may be replaced by alternative configurations for specific sampling purposes e.g. the HLB-SDB configuration for very polar compounds and the Nylon configuration for rather apolar compounds.

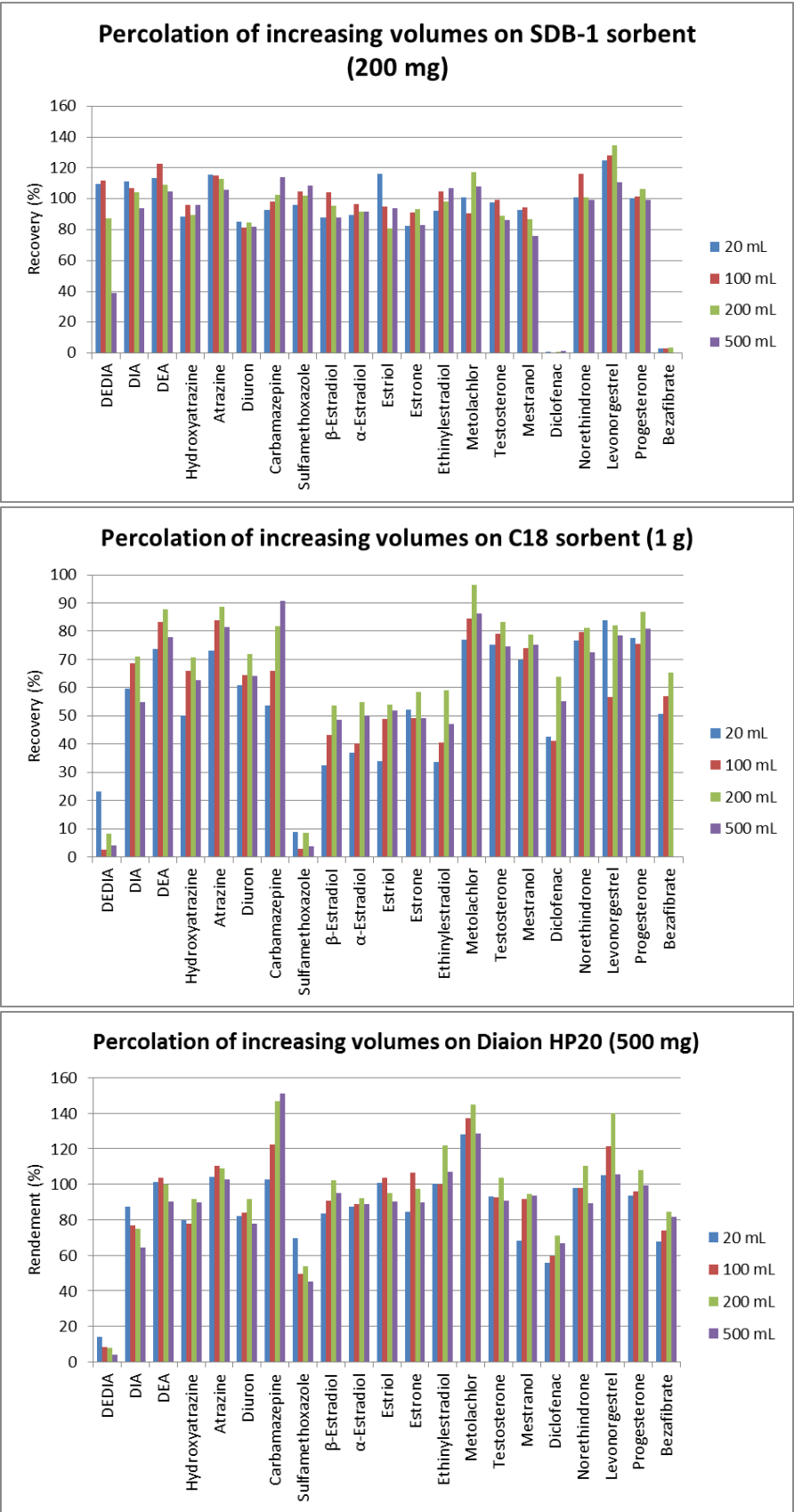
Membrane extraction was performed and negligible amounts ($< 10\%$ of the total mass sampled) were recovered from Nylon and PC membranes. Significant amounts of DEDIA, mestranol and diuron were extracted from the PES membranes. The behavior of diuron was particularly striking because no straightforward physic-chemical explanation was found and the amounts sorbed to the membrane

increased against time with no impact on linearity of the uptake in the receiving phase. Further studies are needed in order to improve current knowledge on mass transfer through the PES membrane.

Acknowledgements

The Aquitaine Region and the European Union (CPER A2E project) are acknowledged for their financial support. “Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund”. The ANRT is acknowledged for the PhD grant. This study has been carried out in the framework of the Cluster of Excellence COTE.

Supplementary information



Publication n°4 : Field calibration and application of POCIS to monitor polar organic compounds, and biofouling impact assessment

Field calibration and application of POCIS to monitor polar organic compounds, and biofouling impact assessment

Perrine WUND^{a,b}, Gaëla LEROY^b, Valérie INGRAND^b, Pierre LABADIE^a and Hélène BUDZINSKI^a

^a Univ. Bordeaux, EPOC-LPTC, UMR 5805, 351 cours de la Libération, 33405 Talence, France

^b Veolia Environnement Recherche et Innovation, Centre de Recherche de Saint Maurice, Immeuble « Le Dufy », 1 place de Turenne, 94417 Saint Maurice Cedex, France

Corresponding author: Hélène BUDZINSKI h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

+33 (0) 5 40 00 69 98

Abstract

Polar Organic Chemical Integrative Samplers (POCIS) were deployed in surface and wastewaters at two different sites in order to monitor pesticides, pharmaceuticals and perfluorinated compounds. Simultaneous time-averaged water sampling and analysis enabled the determination of *in-situ* sampling rates, under conditions more representative than those used in controlled laboratory experiments.

The effect of biofilm on uptake rates was investigated by pre-exposing sets of POCIS both in surface and wastewaters. Comparison with control (unfouled) POCIS proved that biofouling impact on sampling rates was lower than 30 %.

Uptake rates of the same order of magnitude were obtained in surface and wastewaters. They also turned out to be in the same range as sampling rates determined in tap water under controlled conditions. Hence, matrix does not seem to have a major impact on the sampling rates of target compounds.

Passive sampling results provided time-weighted average (TWA) concentrations which fitted well the measured water concentrations for most compounds (20 % relative difference). This result is very satisfactory because it is close to classical analytical errors. This suggests that, after proper *in-situ* calibration, it is possible to implement passive sampling to accurately monitor polar organic compounds in water without introducing supplementary uncertainties compared to traditional sampling methods.

Keywords

POCIS, passive sampling, *in-situ* calibration, TWA concentrations, emerging compounds

Introduction

Water pollution from organic contaminants is an important stake of current environmental research (Allan et al. 2006). The most straightforward method to monitor chemicals in water is to collect grab samples (Vrana et al. 2005). A major drawback of spot sampling is its poor representativeness of the actual contamination, particularly in relation with the high variability of contamination levels in river or wastewater (Allan et al. 2006; Gerecke et al. 2002). Passive sampling may be an alternative approach that can provide a more accurate image of this contamination, while being easier to handle than large volume water samples (Vrana et al. 2005; Górecki et Namieśnik 2002). Within the framework of increasing regulation concerning organic micropollutants, passive sampling devices are of high interest to complement chemical monitoring of priority and emerging contaminants and improve risk assessment (Vrana et al. 2012).

Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) enables the sampling of various classes of hydrophilic organic molecules (Alvarez et al. 2005; Arditoglou et Voutsas 2008; Mazzella et al. 2007; Togola et Budzinski 2007; Belles et al. 2013) and therefore may be particularly suitable for this purpose. This passive sampling device comprises Oasis HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balanced) sorbent in its “Pharm” configuration, sandwiched between two Polyethersulfone (PES) membranes (Alvarez et al. 2004).

Laboratory calibration of POCIS under controlled conditions provides sampling rates, which are necessary for the estimation of Time-Weighted Average (TWA) concentrations after field deployments. However, sampling rates may vary depending on exposure conditions such as temperature, water velocity, matrix... (Togola et Budzinski 2007; Li et al. 2010a; Li et al. 2010b; Li et al. 2011; Bailly et al. 2013). Therefore, the relevance of using sampling rates obtained in the laboratory to derive field water concentrations may be questionable. An alternative option is to calibrate the POCIS directly in the field to obtain highly representative *in-situ* sampling rates (Harman et al. 2012b). This approach provides more accurate sampling rates due to similar exposure conditions between calibration and field study (Zhang et al. 2008; Harman et al. 2012b). However, as this strategy is quite resource intensive, it might be selected for long-term monitoring on a specific site rather than for a one-time campaign. Besides, *in-situ* sampling rates published in the literature are scarce (Zhang et al. 2008; Mazzella et al. 2010; Jacquet et al. 2012; Fedorova et al. 2013). There is thus a need for enriching published *in-situ* sampling rates and evaluating the applicability, performance and reliability of this approach to measure TWA concentrations in various matrices.

In addition, POCIS are typically deployed in the field for several days or weeks. Therefore microorganisms may develop and adhere to the PES membranes, forming a so-called biofilm (Flemming et al. 1997). Biofilm intuitively represents a supplementary barrier to mass transfer and can in this respect be expected to have a major impact on uptake rates (Flemming et al. 1997; Booij et al. 2007). Richardson et al. (2002) observed that the uptake of organochlorinated pesticides and Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fouled Semi-Permeable membrane devices (SPMDs) was two-times lower than in control SPMDs. To our knowledge, only one article (Harman et al. 2009) has reported on the impact of biofouling for POCIS; it showed that the accumulation of alkylphenols in POCIS was enhanced with fouled membranes. The authors explained this behavior by a possible reduction of the interactions between the analytes and the PES membrane. Thus, it appears that information is obviously lacking regarding the effect of biofouling on sampling rates, especially from an operational point of view.

In this study, target molecules included different compound classes such as pesticides, pharmaceuticals and perfluorinated compounds (PFCs). For each class, several model compounds of an anthropic impact on the environment were selected: DEDIA (desethyl-desisopropylatrazine), DEA (desethylatrazine), DIA (desisopropylatrazine), atrazine, hydroxyatrazine, diuron and metolachlor for pesticides; bezafibrate, diclofenac, carbamazepine and sulfamethoxazole for pharmaceuticals; perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) for perfluorinated compounds. This approach also enabled to cover a wide range of polarities ($0 < \log K_{ow} < 4.7$).

Several POCIS deployments were carried out in two different matrices: wastewater and river water. *In-situ* sampling rates were determined and the impact of the biofouling on uptake was assessed. Simultaneously, time-averaged water samples were collected and analysed; a comparison could therefore be made between both sampling techniques.

Experimental section

Materials and chemicals

Methanol (MeOH) of LiChroSolv grade, dichloromethane (DCM) of SupraSolv grade and HPLC water were provided by VWR (Fontenay-sous-bois, France). Acetonitrile (Chromasolv grade) and formic acid (98% purity) were provided by Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France).

Oasis HLB cartridges (6 mL, 200 mg) were purchased from Waters (Guyancourt, France). 6 mL polypropylene (PP) empty cartridges with polyethylene (PE) frits were purchased from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France).

Analytical standards of pesticides were provided by Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Pharmaceuticals and perfluorinated compounds (PFCs) were provided by Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France). Internal standards were purchased from Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany) for pesticides, Alsachim (Illkirch, France) for bezafibrate d6, Cluzeau Info Labo (Saint Foy La Grande, France) for carbamazepine d10 and diclofenac d4, Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France) for sulfamethoxazole $^{13}\text{C}_6$ and Wellington Laboratories (Guelph, Canada) for PFCs. All standards had a purity higher than 96 %.

POCIS fabrication

POCIS were prepared in the laboratory using Oasis HLB bulk phase (60 μm), which was purchased from Waters (Guyancourt, France). Hydrophilic PES SUPOR 100 membranes (0.1 μm , 90 mm diameter) were provided by VWR International (Fontenay-sous-Bois, France).

Oasis HLB and PES membranes were washed with methanol three times during 20 minutes prior to use to avoid contamination of the POCIS.

Water and POCIS extraction

Water samples were extracted on Oasis HLB cartridges. 500 mL were spiked with 100 ng of internal standards. Cartridges were first conditioned with 5 mL MeOH and 5 mL mineral water

(Evian, France). After loading of the sample and drying of the cartridge under vacuum, analytes were recovered with 5 mL of MeOH, 5 mL of MeOH/DCM (50:50, v/v) and 5 mL of DCM. Extracts were evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen (purity higher than 99.9999 %, supplied by Messer, Puteaux, France) and transferred into injection vials in 300 μ L of MeOH/HPLC water (50:50, v/v). Procedural blanks were processed during each water extraction session to account for any contamination affecting water samples.

After exposure, POCIS were disassembled and the sorbent was carefully transferred with mineral water (Evian, France) into PP cartridges fitted with PE frits. The cartridges were dried under vacuum for about one hour and eluted as described above for water samples. The 15 mL of extract were split into 1.5 mL and 7.5 mL aliquots, corresponding respectively to a tenth and a half of the total amount sampled by a POCIS. The remaining 6 mL aliquot was stored as a backup extract. 100 ng of internal standards were added in both aliquots, which were then evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen and transferred into injection vials using 300 μ L of MeOH/HPLC water (50:50, v/v). As analytes were present in water at concentrations of various orders of magnitude, this approach allowed to have two different dilutions for all POCIS samples, and thus to have an instrumental response more likely in the working range of the analytical method.

Description of the deployment sites

The first wastewater treatment plant (named WWTP A) is a 100 000 equivalent-inhabitant urban treatment plant located in France and equipped with activated sludge treatment. POCIS were deployed in the treated effluent channel, where mean water flow rate reached 460 $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ (approximately 4.4 $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$ linear velocity).

The second WWTP (named WWTP B) is larger than the first one (1.4 million equivalent-inhabitants). It is located in Europe and includes a biological secondary treatment. The flow rate of the effluent was about 10 000 $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ during the POCIS exposure period. As the geometry of the effluent channel is complicated, no linear velocity can be easily derived from this value. POCIS were deployed in the effluent channel but also in the river receiving the effluent from WWTP B, both upstream and downstream of the effluent discharge point. This river is located in an industrial area and its flow rate is comprised between 1 and 5 $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ upstream of the WWTP and 2 and 22 $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ downstream of the WWTP.

Field controls (i.e. unexposed POCIS) were employed alongside the exposed POCIS during all stages of the deployments (preparation of samplers, transportation, deployment, storage, extraction and analysis) to account for any contamination affecting POCIS samples.

Field deployments of POCIS and assessment of the influence of biofilm on uptake rates

WWTP A

Two different field studies were conducted on this site. The aim of the first one was to obtain *in-situ* sampling rates. The aim of the second deployment was dual: on the one hand, to assess the

influence of biofilm on uptake rates and on the other hand to compare water concentrations determined by POCIS and by averaged water sampling. During both deployments, autosamplers (Endress-Hauser, Huningue, France) enabled the collection of flow proportional 24h-averaged water samples from the treated effluent. One sample was collected every three days during the exposure periods i.e. a 15 day deployment yielded around 5 water samples. They were stored in glass and High Density Polyethylene (HDPE) bottles (Fisher Scientific, Illkirch, France) at -20°C until extraction. POCIS were exposed in commercial canisters purchased from Exposmeter (Tavelsjö, Sweden).

The first deployment was carried out in the treated effluent of WWTP A in October 2012. Duplicate POCIS were deployed and retrieved after 3, 5, 7, 10 and 15 days.

The second deployment was carried out in the treated effluent of WWTP A in November 2012. In order to assess the influence of biofilm, a first set of POCIS was pre-exposed during 15 days. Samplers were then brought back to the laboratory and dismantled. Fouled PES membranes were left to dry at room temperature overnight. They were then used to prepare “fouled” POCIS with new HLB sorbent. This set of POCIS and a set of control (unfouled) POCIS were exposed in the effluent of the WWTP for 3, 5, 7, 10 and 15 days. After exposure, POCIS were wrapped in aluminum foil and stored frozen in hermetically closed freezer bags until extraction.

WWTP B

POCIS were exposed upstream, downstream and in the treated effluent of WWTP B in April 2013 in commercial canisters purchased from Exposmeter (Tavelsjö, Sweden). Autosamplers (Endress-Hauser, Huningue, France) continuously collected water samples upstream and downstream of the WWTP. The sampling was time-proportional and water samples were collected every 3 days, representing an average concentration over these 3 days. Five averaged water samples were therefore collected upstream and downstream of WWTP B over the 15 day deployment.

An automated flow-proportional water sampler (Endress-Hauser, Huningue, France) was operated in the treated effluent of the WWTP and provided averaged water samples on a daily basis. A sample was collected every three days but contrary to upstream and downstream of this WWTP, it just represented the average of one day. Thus, four 24h-averaged samples were obtained over the 15 day deployment.

All water samples were stored in HDPE bottles (Fisher Scientific, Illkirch, France) at -20°C until extraction.

A similar approach as for WWTP A was adopted to investigate the influence of biofilm. One set of POCIS was pre-exposed in the river upstream of WWTP B during 15 days. All POCIS, including those prepared with fouled PES membranes, were then exposed during 3, 5, 7, 10 and 15 days and one single replicate of POCIS was collected at each sampling location (upstream, downstream and effluent) at these dates. After exposure, POCIS were wrapped in aluminum foil and stored at -20°C in hermetically closed freezer bags until extraction.

Operators from both WWTPs supplied data for the effluent physico-chemical parameters. Major parameters (pH, conductivity, temperature) were also measured in each surface water sample collected upstream and downstream of WWTP B to ensure that the experimental conditions remained steady. These results are shown in the Supporting Information section.

LC-MS/MS analysis

All analyses were performed by liquid-phase chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with an electrospray ionization (ESI) source operated both in positive and negative ion mode. Samples were analyzed on a TSQ Quantum LC-MS/MS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). Analytes were separated chromatographically on a C₁₈ BDS Hypersil column (100 x 2.1 mm, 3 µm particle size). The column was kept at 35°C and 50 µL of sample were injected in the chromatographic system.

Mobile phases were: A - HPLC water + 0.1% formic acid and B - Acetonitrile + 0.1% formic acid, at a flow rate of 0.2 mL.min⁻¹. For both ionization modes, the elution gradient program was as follows: the gradient was initiated with 80% A, then increased to 100% B by 15 min and held at 100% B for 1 min before returning to the starting conditions by 16.1 min and equilibrated for 10 min before next analysis, resulting in a total run time of 26 minutes.

The LC-MS/MS instrument was operated in positive ionization mode for the analysis of pesticides and pharmaceuticals and in negative ionization mode for PFCs using multiple-reaction monitoring (MRM) for the transition ions listed in table 1.

Table 1 - Parameters for the analysis of pesticides, pharmaceuticals and perfluorinated compounds on TSQ Quantum mass spectrometer

Compound	Quantification transition	Collision energy (eV)	Confirmation transition	Collision energy (eV)	Tube lens (V)	Ionization Mode
Atrazine	215.9 > 173.7	26	215.9 > 103.7	39	93	ESI+
<i>Atrazine d5</i>	220.9 > 178.8	26	-	-	93	ESI+
DEA	187.8 > 145.7	25	187.8 > 42.9	27	91	ESI+
DEDIA	145.8 > 103.7	26	145.8 > 78.8	28	95	ESI+
DIA	173.8 > 103.7	30	173.8 > 95.8	27	96	ESI+
<i>DIA d5</i>	178.9 > 136.8	28	-	-	94	ESI+
Diuron	232.8 > 71.8	23	232.8 > 159.6	35	94	ESI+
<i>Diuron d6</i>	238.9 > 77.9	28	-	-	90	ESI+
Hydroxyatrazine	197.9 > 155.8	25	197.9 > 85.8	31	92	ESI+
Metolachlor	283.9 > 251.8	25	283.9 > 175.8	31	85	ESI+
Bezafibrate	362.0 > 138.9	35	362.0 > 316.0	21	106	ESI+
<i>Bezafibrate d6</i>	368.0 > 138.8	35	-	-	106	ESI+
Carbamazepine	237.0 > 194.0	29	237.0 > 193.0	43	101	ESI+
<i>Carbamazepine d10</i>	247.0 > 204.0	32	-	-	103	ESI+
Diclofenac	295.9 > 213.9	45	295.9 > 214.9	28	92	ESI+
<i>Diclofenac d4</i>	299.9 > 217.8	42	-	-	83	ESI+
Sulfamethoxazole	253.9 > 107.9	32	253.9 > 155.8	24	91	ESI+
<i>Sulfamethoxazole</i> ¹³ C ₆	259.9 > 161.8	24	-	-	97	ESI+
PFOA	368.8 > 168.8	21	412.7 > 368.8	20	76	ESI-
<i>13C4-PFOA</i>	416.8 > 371.8	21	-	-	92	ESI-
PFOS	498.8 > 79.8	39	498.8 > 498.8	10	115	ESI-
<i>13C4-PFOS</i>	502.8 > 79.8	42	-	-	124	ESI-

Analytes were quantified by injecting a mixture of standard reference solutions at eight different concentrations (5 to 2000 pg/µL of target compounds in the vial). Quantification was performed with isotopically labeled compounds that were added in the samples before processing and were used as internal standards. Similar amounts of internal standards were added in the samples and in the calibration solutions (200 pg/µL of internal standards in the vial).

Sampling rates, TWA and uncertainty determination procedure

The calculation of sampling rates has already been described in details elsewhere (Vrana et al. 2005). Briefly, assuming that the POCIS are in linear uptake regime, the sampling rate (R_s , in $L \cdot day^{-1}$) links the mass sampled by POCIS (M_s , in ng) to the time-weighted average (TWA) water concentration (C_w , in $ng \cdot L^{-1}$) and the time (t , in days), according to:

$$M_s = R_s C_w t \quad (1)$$

POCIS were exposed during various durations up to 15 days and the concentration factor M_s / C_w was plotted against time. Data was fitted with a linear regression and the sampling rate could be deduced from the slope of the regression.

TWA concentrations were calculated from the amounts of compounds accumulated in the POCIS exposed for 15 days and *in-situ* sampling rates that were previously determined. Thus, TWA concentrations could be calculated and compared to the measured values in composite water samples.

In order to assess uncertainties affecting the results, the approach of the propagation of uncertainties was applied to equation 1. Uncertainty regarding time measurement was considered as insignificant compared to the other sources of uncertainty. Two origins of uncertainty were identified for mean water concentration measurements: the variability of concentrations in the sampled medium (standard deviations of the various water samples obtained over an exposure period, written $\Delta C_{w(var)}$ in equation 2) and the accuracy of the analytical procedure (extraction and analysis). Difference between 100% and the actual recovery of the spiked water sample was taken as an estimate of this latter point, written $\Delta C_{w(quant)}$ in equation 2. Concerning POCIS concentration measurements, the standard deviation between replicates ($\Delta M_{s(replicates)}$) and the difference between 100% and the actual recovery rate from spiked HLB sorbent sample were taken into account ($\Delta M_{s(quant)}$). The equation 2 gives an example of uncertainty calculation for R_s , but a similar approach was used to estimate an uncertainty for water concentrations.

$$\frac{\Delta R_s}{R_s} = \sqrt{\left(\frac{\Delta M_{s(replicates)}}{M_s}\right)^2 + \left(\frac{\Delta M_{s(quant)}}{M_s}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C_{w(var)}}{C_w}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C_{w(quant)}}{C_w}\right)^2} \quad (2)$$

QA/QC issues

Among all target compounds, PFCs are particularly sensitive to blank issues. Field controls (i.e. unexposed) POCIS were employed alongside the exposed POCIS during all stages of the deployments (preparation of samplers, deployment, storage, extraction and analysis). They were exposed to air nearby the exposed POCIS. In addition, procedural blanks were processed during the water extractions to account for any contamination affecting water samples.

Besides, during every water or POCIS extraction session, water or HLB sorbent was spiked with 150 ng of target analytes to check for recovery. As an example, excluding DEDIA, recoveries between 64 % (sulfamethoxazole) and 114 % (carbamazepine) were obtained for a spiked water sample, and between 55 % (sulfamethoxazole) and 113 % (carbamazepine) for a spiked HLB sorbent sample. During LC-MS/MS analysis, blanks (MeOH) were regularly analyzed to ensure that no cross-contamination occurred between samples.

Amounts quantified in procedural water blanks were always negligible (< 0.2 ng for all target compounds) compared to those observed in field water samples. Blank levels in unexposed POCIS were also negligible ($< 2\%$) compared to those found in exposed POCIS, except for carbamazepine and diclofenac. In fact, 7 ng of carbamazepine and 9 ng of diclofenac were quantified in field blank POCIS used during the deployment in WWTP B. These amounts represent less than 5% of the lowest amount quantified in exposed POCIS (POCIS exposed in the most diluted matrix i.e. upstream and during three days). Therefore, all water and POCIS samples were processed without any blank subtraction.

Results and discussion

Water concentrations

For both WWTP, averaged water concentrations are presented in table 2 with associated relative standard deviations.

Table 2 – Water concentrations in the effluents of WWTP A and B, and upstream and downstream of WWTP B

	WWTP A				WWTP B					
	24h-averaged sampling Flow proportional				3-day averaged sampling Time-proportional				24h-averaged sampling Flow proportional	
	Mean concentration in the effluent (n = 5) Experiment 1 ng/L	RSD %	Mean concentration in the effluent (n = 4) Experiment 2 ng/L	RSD %	Mean concentration upstream of the WWTP during the deployment (n = 5) ng/L	RSD %	Mean concentration downstream of the WWTP during the deployment (n = 4) ng/L	RSD %	Mean concentration in the effluent of the WWTP during the deployment (n = 4) ng/L	RSD %
Deployment time	25/09/12 - 10/10/12		06/11/12 - 21/11/12		15/04/13 – 30/04/13					
Atrazine	10	8	11	6	15	13	15	12	11	17
DEA	7	10	6	14	23	25	18	9	7	67
Diuron	152	51	112	39	33	18	49	7	66	9
Hydroxyatrazine	14	6	13	3	13	30	12	36	8	44
Bezafibrate	27	38	24	9	17	24	22	8	34	25
Carbamazepine	716	6	666	6	191	12	377	11	727	15
Diclofenac	673	4	690	8	205	5	466	5	881	14
Sulfamethoxazole	97	22	26	11	19	50	97	15	178	23
PFOA	22	7	23	7	10	24	14	31	27	19
PFOS	14	5	24	14	21	126	18	107	13	18

For all compounds, concentrations in both treated effluents were in agreement with values reported in the literature (Bueno et al. 2012; Capdeville 2011; Zareitalabad et al. 2013; Heidler et Halden 2008). For both sites, among the three classes targeted in this study, pharmaceuticals represent the highest input of organic micropollutants into the receiving rivers.

For all pharmaceuticals, the impact of the WWTP B on the river looks noteworthy. In fact, the concentrations downstream of the WWTP are significantly higher than upstream because of the effluent having high pharmaceutical concentrations. Concerning the other compound classes, concentrations in the treated effluent are generally much lower than for pharmaceuticals, which leads to a minor input into the receiving river.

In the end of the deployment in WWTP B, a peak of PFOS occurred in the river. The peak concentration reached 70 ng.L^{-1} , compared to a background concentration around 10 ng.L^{-1} observed in all previous samples. This explains the high variability of PFOS concentration (RSDs higher than 100%) upstream, and to a lower extent, downstream of WWTP B.

Overall, the concentrations of the other molecules were quite constant with RSDs below 50% over the exposure periods.

Impact of the biofilm on sampling rates

Among all the compounds that were present in water, atrazine, diuron, bezafibrate, carbamazepine, diclofenac and PFCs accumulated linearly in the POCIS. The accumulation of atrazine in control and fouled POCIS exposed in the effluent of WWTP A is presented in figure 1. For each exposure duration, the mass of analyte sampled by POCIS was divided by water concentrations averaged over the period during which the POCIS was immersed.

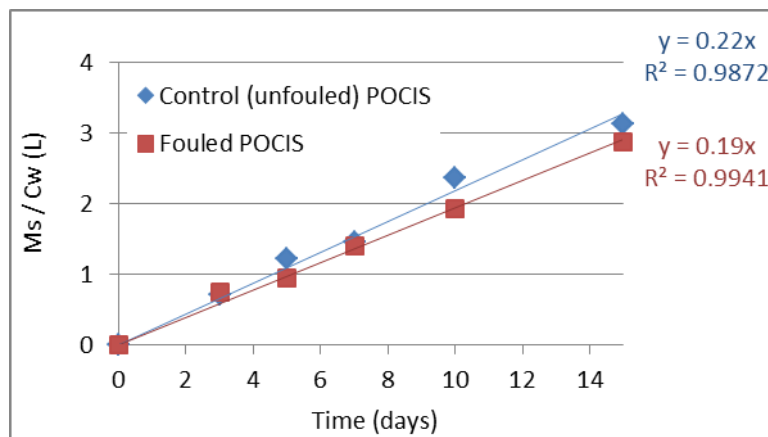


Figure 1 – Concentration factors (M_s / C_w) of atrazine in control and fouled POCIS deployed in the effluent of WWTP A during two weeks

The accumulation of atrazine in both control and fouled POCIS follows a linear pattern over 15 days and provides close sampling rates of 0.22 and 0.19 L/day for control and fouled POCIS, respectively.

DEA, hydroxyatrazine and sulfamethoxazole exhibit a curvilinear uptake curve, which leads to the exclusion of these compounds for further comparison between fouled and unfouled POCIS.

Results for all molecules that were sampled linearly by POCIS are shown in figure 2. Stripped bars stand for sampling rates determined with fouled PES membranes.

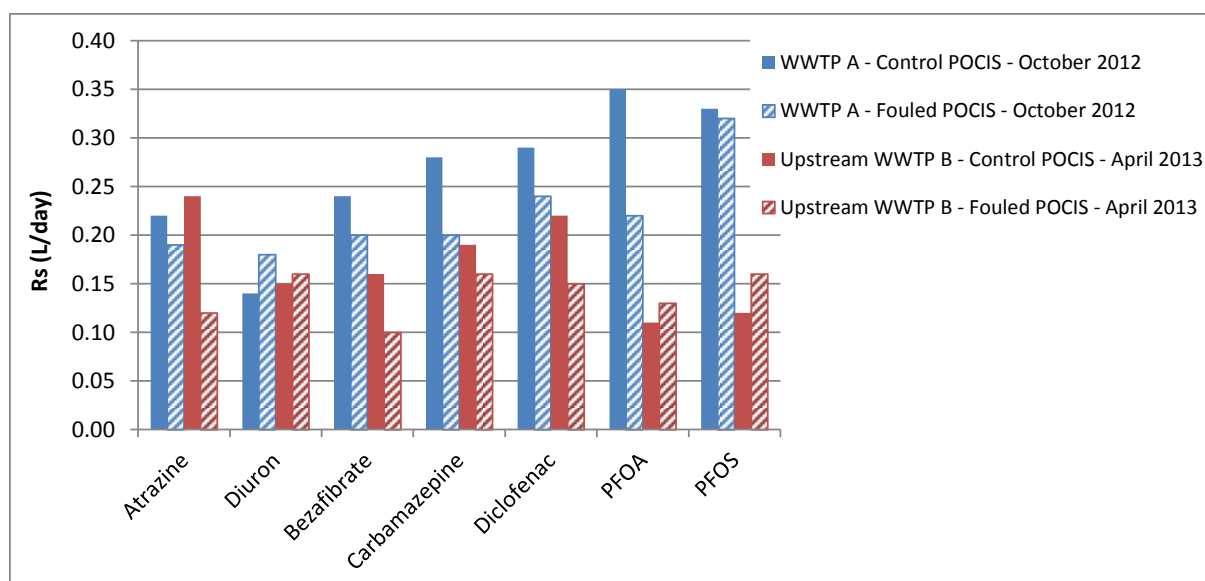


Figure 2 – Sampling rates of new and fouled POCIS determined in the effluent of WWTP A (October 2012) and upstream of WWTP B (April 2013)

Generally, sampling rates were slightly lower with fouled membranes (atrazine, bezafibrate, carbamazepine, diclofenac). For each site, relative differences were estimated between R_s obtained with fouled and unfouled POCIS. Average differences of 21 % and 28 % were obtained for WWTP A and upstream of WWTP B, respectively, therefore the impact of biofouling on uptake rate does not seem crucial. For diuron and PFCs, biofouling did not seem to modify uptake rates, except for PFOA in the effluent of WWTP A.

It should be noted that after the initial 15 day exposure to induce fouling in both WWTP, the PES membranes were only faintly fouled and it obviously did not represent a worst-case scenario concerning biofouling. These results underline the multiplicity of compartments and mass transfer phenomena implied during passive sampling (Belles et al. 2013) and the necessity of further investigation regarding the impact of this parameter.

Determination of *in-situ* sampling rates for WWTP B

Conductivity values measured upstream, downstream and in the effluent of WWTP B (see Supporting Information) enabled to estimate a dilution factor of the river due to the input of the WWTP effluent. It turned out that the ratio between upstream and downstream water flow rate was around 1.7. It means that both the river and the WWTP effluent contributed almost equally to the general water mixture flowing downstream of the WWTP.

Even if a peak of PFOS occurred upstream and, to a lower extent, downstream of WWTP B at the end of the exposure period (Table 2), it did not hinder the determination of a sampling rate for this compound. In fact, this peak was well integrated by the POCIS (Figure 3) and the uptake, represented by the concentration factor, was still proportional to time. In the effluent, no sampling rate could be determined for PFOS because of poor linearity ($R^2 = 0.45$). Important ion suppression, indicating matrix effects, was observed with the effluent of WWTP B, which resulted in poorer analytical quantification accuracy for compounds present at low concentrations in water like PFOS (around 10 ng.L^{-1}). In addition, the lack of POCIS replicates hindered the smoothing of analytical variability.

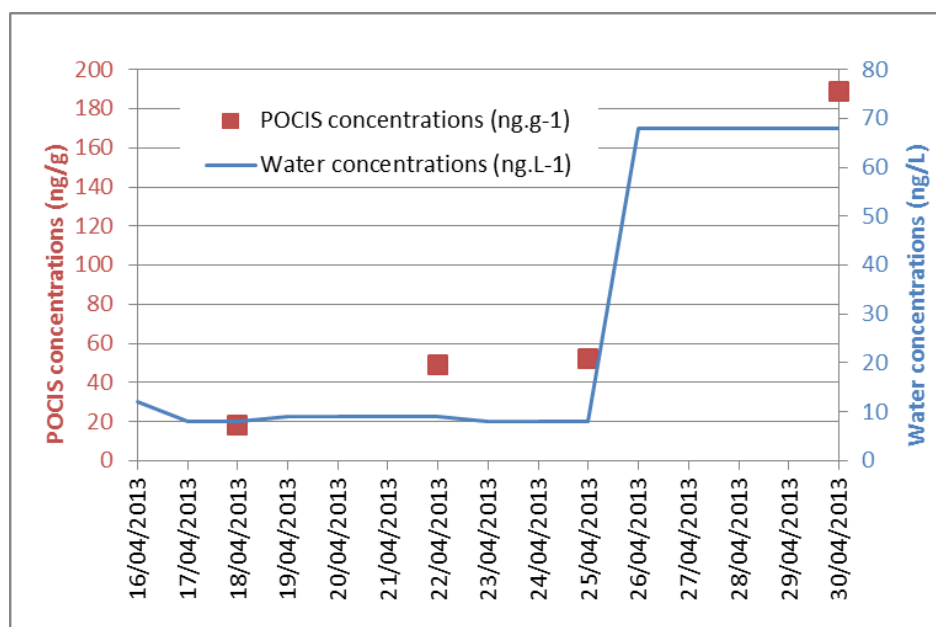


Figure 3 – Integration by POCIS of the peak of PFOS that occurred upstream of WWTP B (April 2013)

Table 3 – *In-situ* sampling rates obtained upstream, downstream and in the effluent of WWTP B (April 2013)

	Sampling rates (L.day ⁻¹)			Relative standard deviations
	Upstream	Downstream	Effluent	
Atrazine	0,24	0,18	0,14	27 %
Diuron	0,15	0,14	0,13	7 %
Bezafibrate	0,16	0,11	0,12	20 %
Carbamazepine	0,19	0,18	0,14	16 %

Diclofenac	0,22	0,14	0,11	36 %
PFOA	0,11	0,20	0,19	30 %
PFOS	0,12	0,15	ND	16 %

All sampling rates were within a 0.1 to 0.2 L.day⁻¹ interval (Table 3). Relative standard deviations of sampling rates determined in the three matrices ranged from 7 % (diuron) to 36 % (diclofenac). This variability can be considered as low compared to typical analytical uncertainties and taking into account that one single POCIS replicate was used for each exposure time and matrix.

An important biofilm development was observed on POCIS exposed in the effluent of WWTP B. However, sampling rates determined at this location are in the same range as sampling rates obtained with less fouled POCIS exposed upstream and downstream WWTP B (Table 3). This observation confirms the previous conclusion about a low impact of biofilm on sampling rates.

These sampling rates compare well to values determined in the laboratory with tap water and at pilot scale with natural water. Taking atrazine as an example, *in-situ* sampling rates obtained in the framework of this field study are very close to literature values: 0.228 L.day⁻¹ reported by Lissalde et al. (2011), 0.239 L.day⁻¹ reported by Mazzella et al. (2007), 0.214 L.day⁻¹ reported by Martínez Bueno et al. (2009) and 0.263 L.day⁻¹ reported by Fauvelle et al. (2012), among others. Most of these literature values have been determined in tap water. Therefore, sampling rates appear very robust despite changes in environmental parameters such as matrix or calibration designs.

Comparison with averaged water sampling

Two successive deployments were conducted in the effluent of WWTP A. The first one provided *in-situ* sampling rates, which were then used during the second exposure on the same site to estimate TWA concentrations from the amounts sampled by POCIS. These concentrations were calculated using equation 1 (Table 4). In parallel, mean water concentrations were obtained from the four 24h-averaged water samples (Table 2) and could be compared with the concentrations measured with POCIS (Table 4). The approach of propagation of uncertainties was used to estimate all uncertainties affecting experimental results (Equation 2).

Table 4 – TWA concentrations calculated from POCIS results and averaged water sampling in WWTP A (Deployment 1 was conducted in October 2012 and deployment 2 in November 2012). Shaded cells correspond to results from the first deployment.

Compound	<i>In-situ</i> sampling rates ± uncertainty (L.day ⁻¹)	Amounts accumulated in POCIS (ng)	Exposure duration (days)	Estimated water concentrations with POCIS ± uncertainty (ng.L ⁻¹)	Measured average water concentrations ± uncertainty (ng.L ⁻¹)	Difference (%)
	Deployment 1	Deployment 2	Deployment 2	Deployment 2	Deployment 2	Deployment 2
Atrazine	0.20 ± 0.05	35 ± 6	15	12 ± 4	11 ± 1	4
Diuron	0.24 ± 0.14	241 ± 77		67 ± 45	112 ± 48	- 41
Hydroxyatrazine	0.13 ± 0.04	26 ± 7		13 ± 5	13 ± 2	5
Bezafibrate	0.19 ± 0.10	81 ± 23		29 ± 17	24 ± 7	20
Carbamazépine	0.23 ± 0.05	2600 ± 415		754 ± 212	666 ± 88	13
Diclofenac	0.25 ± 0.05	3058 ± 646		815 ± 245	690 ± 169	18
PFOA	0.29 ± 0.05	106 ± 8		24 ± 5	23 ± 4	6
PFOS	0.25 ± 0.10	122 ± 42		33 ± 18	24 ± 5	35

Water concentrations estimated from passive sampling results are in very good agreement with measured water concentrations. For most compounds, the difference between both values was below 20 %, which is close to classical analytical uncertainties. Compounds exhibiting a slightly higher discrepancy, like diuron or PFOS for example, also showed somewhat higher uncertainties for both concentration measurement methods. For all compounds, taking into account the uncertainty associated with each approach, both concentration values (i.e. estimated with passive sampling and measured in water averaged samples) overlapped. As a consequence, it appears that, after *in-situ* calibration, passive sampling with POCIS can be implemented in WWTP outflows to provide accurate concentration estimates, within the uncertainty observed for more classical methods.

Conclusions

Several field deployments of POCIS were carried out and enabled the determination of highly representative *in-situ* sampling rates for various compound classes. The effect of biofilm on uptake rates was low (< 30 %). However, it has to be kept in mind that biofouling development appeared limited during our field studies and therefore did not correspond to a worst-case scenario. Further studies are therefore definitely needed in order to better assess the influence of this potentially crucial parameter.

Uptake rates of the same order of magnitude were obtained at the different sampling locations (upstream, downstream and in the effluent of WWTP B). Moreover, they compared well to literature values, that are most of the time derived from calibrations conducted in tap water. This led to the conclusion that matrix has a limited impact on uptake rates and thus POCIS can be considered as a robust tool. Besides, a peak of PFOS happened in the river during the exposure. This coincidental event was well integrated by the POCIS, confirming its integrative characteristics and its potential to account for variable concentrations in the framework of water monitoring.

TWA concentrations were estimated from the passive sampling results and fitted well the measured water concentrations for most compounds, getting close to classical analytical uncertainties

(20 %). Therefore, the approach using *in-situ* sampling rates provided an accurate and reliable TWA concentration estimate. Finally, it could be of interest to widely implement *in-situ* calibrations in order to investigate the range of variability of sampling rates within representative experimental conditions and to compare them with values obtained in more classical conditions (in the laboratory or at pilot scale).

Acknowledgements

The Aquitaine Region and the European Union (CPER A2E project) are acknowledged for their financial support. “Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund”.

The ANRT is acknowledged for the PhD grant.

This study has been carried out in the framework of the Cluster of Excellence COTE.

Supporting Information

Table SI.1 – Physico-chemical parameters measured in water samples from WWTP B (mean value \pm standard deviation, n = 4)

	Temperature	pH	Conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Upstream	18.4 ± 2.8	6.7 ± 0.2	864 ± 18
Downstream	18.3 ± 2.4	7.3 ± 0.2	977 ± 16
Effluent	14.7 ± 2.3	7.5 ± 0.1	1131 ± 26

Publication n°5 : Influence of water temperature, flow rate and matrix on POCIS sampling rates, and response to concentration peaks

Influence of water temperature, flow rate and matrix on POCIS sampling rates, and response to concentration peaks

Perrine WUND^{a,b}, Gaëla LEROY^b, Valérie INGRAND^b and Hélène BUDZINSKI^{a*}

^a Univ. Bordeaux, EPOC-LPTC, UMR 5805, 351 cours de la Libération, 33405 Talence, France

^b Veolia Environnement Recherche et Innovation, Centre de Recherche de Saint Maurice, Immeuble « Le Dufy », 1 place de Turenne, 94417 Saint Maurice Cedex, France

Corresponding author: Hélène BUDZINSKI h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr
+33 (0) 5 40 00 69 98

Abstract

The influence of various relevant environmental parameters on POCIS sampling rates was assessed: temperature (5°C and 20°C), flow rate (1.2 and 6.8 cm.s⁻¹) and matrix (surface water, sand-filtered surface water and treated wastewater). It turned out that none of these parameters had a major impact on sampling rates. An overall variability below 40% was obtained for most compounds targeted in this study (pesticides, steroid hormones, pharmaceuticals and perfluorinated compounds). This result was considered as very satisfactory compared to the uncertainty of traditional sampling and analytical techniques, and highlighted the robustness of POCIS despite variable environmental concentrations.

Moreover, the ability of POCIS to integrate fluctuations of concentrations has been poorly investigated in the literature. In the present work, one-day concentration peaks occurring at the beginning, in the middle and at the end of exposure were simulated in microcosms. These pulse events led to the validation of the integrative aspect of POCIS during 12 days, which appears therefore totally appropriate for the monitoring of variable water concentrations.

Keywords

POCIS, passive sampling, environmental parameters, concentration peaks, water

Introduction

Within the framework of increasing regulation concerning organic micropollutants, passive sampling devices are of high interest to complement chemical monitoring of priority and emerging contaminants and improve risk assessment (Vrana et al. 2012). Indeed, the use of passive samplers enables the estimation of time-weighted average (TWA) concentrations at a limited cost and are easily implemented (Vrana et al. 2005). Polar Organic Integrative Samplers (POCIS) are of high interest to monitor polar organic contaminants such as pharmaceuticals, polar pesticides, steroid hormones and alkylphenols (Alvarez et al. 2005; Arditsoglou et Voutsas 2008; Togola et Budzinski 2007; Mazzella et al. 2007). This passive sampler contains Oasis HLB sorbent as a receiving phase, enclosed between two polyethersulfone (PES) membranes. However, it has been shown that various environmental parameters have an influence on uptake kinetics: water flow rate (Alvarez et al. 2004; Bailly et al. 2013; MacLeod et al. 2007; Li et al. 2010b; Charlestra et al. 2012), temperature (Togola et Budzinski 2007; Li et al. 2010a; Bailly et al. 2013), biofouling (Harman et al. 2009), pH (Zhang et al. 2008; Li et al. 2011), salinity (Togola et Budzinski 2007; Zhang et al. 2008), organic matter concentration (Li et al. 2011; Charlestra et al. 2012; Bailly et al. 2013)... Therefore, sampling rates obtained in the laboratory may not be fully representative of field exposure conditions and may thus introduce a bias when water concentrations are estimated from this value.

In the literature, various strategies have been considered in order to overcome this issue and improve the quantitative aspect of POCIS. The PRC (Performance Reference Compound) approach was initially developed and applied for Semi-Permeable Membrane Devices (SPMDs) (Huckins et al. 2001). Mazzella et al. (2007) highlighted the potential of desisopropylatrazine-d5 as PRC for POCIS as isotropic exchanges were observed for this compound. It led to a significant improvement of the quantification of polar herbicides compared to POCIS without PRCs, the reference being water averaged sampling (Mazzella et al. 2010). However, considering the important lack in current knowledge about sorption mechanisms, the multiplicity of compartments involved (Belles et al. 2013) and the variety of interactions between analytes and Oasis HLB, implying potential competition processes (Bäuerlein et al. 2012; Harman et al. 2011a), this approach still remains an on-going challenge. Other exposure correction methods worth mentioning may include the use of co-deployed hydrophobic passive samplers with PRCs as surrogates (Harman et al. 2012b) or dissolution of casts of plaster (passive-flow monitors) that enables to correct for flow variations (O'Brien et al. 2009). Nevertheless, these approaches are only at their early stages of development and remain a field of investigation.

Obviously the optimal solution would be to carry out *in-situ* calibrations as the resulting sampling rates are fully representative of field conditions (Morin et al. 2012). This approach is very resource intensive and may be chosen for a long-term monitoring on a specific site.

An option is to evaluate the range of variability of sampling rates with the most relevant environmental parameters and head towards a semi-quantitative assessment of water concentrations. In the present work, three major environmental parameters that likely impact sampling rates were investigated: temperature, flow rate and matrix. Calibrations were carried out in the laboratory at 5°C and 20°C to assess the influence of the temperature. Similar experiments were conducted at pilot scale with two different flow rates (1.2 and 6.8 cm.s⁻¹) and various matrices (surface water, sand-filtered surface water and treated wastewater).

Besides, a major advantage of passive sampling with POCIS is its ability to integrate variations in water concentrations, providing TWA concentrations (Vrana et al. 2005). However, there is a paucity of published studies dealing with the integration of short-term fluctuations by POCIS. Only two articles (Belles et al. 2013; Mazzella et al. 2008) present results on the accuracy of pulse event

integration by POCIS. There is thus an evident lack of knowledge regarding the integrative aspect of this passive sampling tool in the framework of water monitoring. Therefore, the present study also included the assessment of the integrative aspect of POCIS when exposed to episodic events. In fact, transient, high environmental concentrations ($10 \mu\text{g.L}^{-1}$) were simulated in a microcosm while keeping another one as a reference ($1 \mu\text{g.L}^{-1}$). Amounts of chemicals sampled by both sets of POCIS were then compared.

Experimental section

Materials and chemicals

Methanol (MeOH) and acetonitrile (ACN) from JT Baker were provided by Atlantic Labo (Bruges, France). Dichloromethane (DCM) from Acros was provided by Fisher Scientific (Illkirch, France). Ultra-pure water was produced with a Millipore BioPak ultrafiltration cartridge. Formic acid of “Baker analysed” grade was provided by Atlantic Labo (Bruges, France).

POCIS were prepared in the laboratory using Oasis HLB bulk phase ($60 \mu\text{m}$), which was purchased from Waters (Guyancourt, France). Hydrophilic PES SUPOR 100 membranes ($0.1 \mu\text{m}$, 90 mm diameter) were provided by VWR International (Fontenay-sous-Bois, France).

Oasis HLB cartridges (6 mL, 200 mg) were purchased from Waters (Guyancourt, France). 6 mL Polypropylene (PP) empty cartridges with Polyethylene (PE) frits were purchased from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France).

Analytical standards of pesticides were provided by Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Pharmaceuticals, perfluorinated compounds (PFCs) and steroid hormones were provided by Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France), except ethinylestradiol which was purchased to Santa Cruz Biotechnology (Dallas, USA).

Water and POCIS extraction

Water samples were extracted on Oasis HLB cartridges (6 mL, 200 mg). 50 mL of water were spiked with 50 ng of internal standards. Cartridges were first conditioned with 5 mL MeOH and 5 mL mineral water (Vittel, France). After loading of the sample and drying of the cartridge under vacuum, analytes were recovered with 5 mL MeOH, 5 mL MeOH/DCM (50/50) and 5 mL DCM. This solvent mixture gave satisfactory recoveries on spiked water samples. Extracts were evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen (purity higher than 99,995%, supplied by Linde Gas, Saint-Priest, France) and transferred into injection vials in 150 μL MeOH and 150 μL ultra-pure water.

After exposure, POCIS were disassembled and the sorbent was carefully transferred with mineral water (Vittel, France) into PP cartridges fitted with PE frits. The cartridges were dried under vacuum for about one hour and eluted as described above for water samples. 2 mL were taken from the 15 mL extracts and were spiked with 50 ng of internal standards. They were then evaporated to dryness under

a gentle stream of nitrogen and transferred into injection vials using 150 μL MeOH and 150 μL ultra-pure water.

Influence of the temperature

POCIS were calibrated using a flow-through design, in two 27L glass tanks (Figure 1). Exposure tanks were placed in bigger vessels filled with water whose temperature was controlled by recirculation in a thermally regulated water bath. Temperature in the exposure water was checked daily and averaged $5.3 \pm 0.1^\circ\text{C}$ and $19.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ ($n = 19$), with sets points at 5°C and 20°C respectively.

Water was mixed at 45 rpm by overhead stirrers. Tap water flow rate was $8.6 \text{ L}\cdot\text{day}^{-1}$, which enabled a complete renewal in a tank within 3 days. Target analytes were dissolved in MeOH ($0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), this spiking solution was injected into the tanks at a $40 \text{ mL}\cdot\text{day}^{-1}$ flow rate, resulting in a nominal concentration of about $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The subsequent MeOH concentration ($< 1\%$, v/v) is not expected to affect analyte partitioning between water and POCIS. POCIS were deployed in triplicates in both tanks and retrieved after 3, 5, 12, 17 and 20 days of exposure. They were wrapped in aluminum foil and stored frozen in hermetically closed freezer bags until extraction.

Actual water concentrations were assessed experimentally. Daily water samples were collected from both tanks in High-Density Polyethylene (HDPE) and glass bottles and stored frozen until extraction. Samples stored in glass bottles were extracted and analyzed for pesticides, steroid hormones and pharmaceuticals in positive ionization mode, and samples stored in HDPE bottles were extracted and analyzed for PFCs in negative ionization mode.

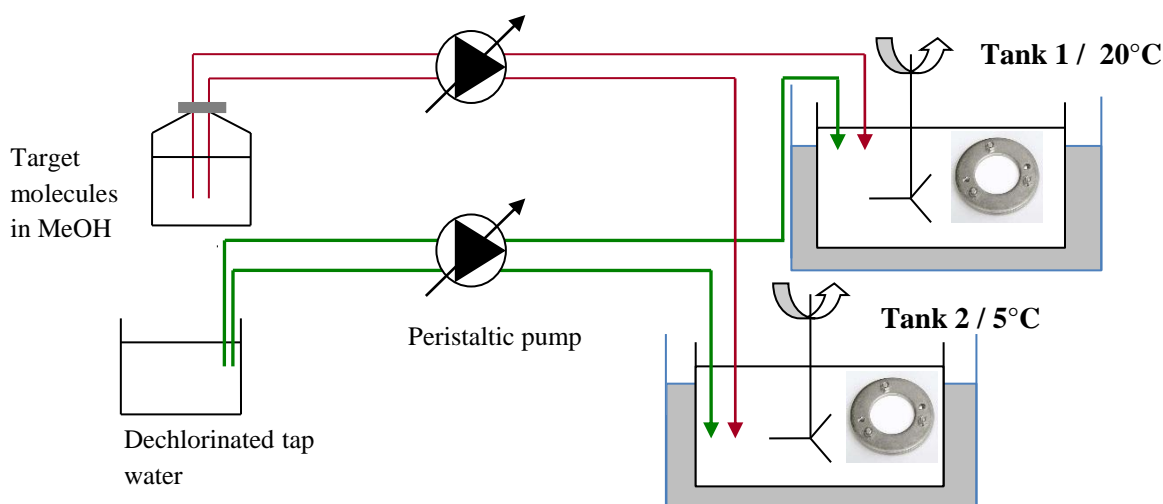


Figure 1 – Experimental design used to assess the influence of the temperature on POCIS sampling rates

Influence of water flow rate and matrix

In order to assess the influence of water flow rate and matrix on POCIS sampling rates, calibrations were carried out at pilot scale. The calibration system and the approach to evaluate the linear velocity at POCIS surfaces have already been presented in details elsewhere.

Briefly, POCIS were placed on holders (Exposmeter AB, Taveksjö, Sweden) that were fixed to the rotating axis, which allows a better control of the linear velocity of water at their surface. Rotation speeds of the motors were set to 6 and 33 rpm, which corresponded to a water velocity relatively to POCIS of 1.2 and 6.8 cm.s⁻¹, respectively. The 200L tanks were continuously fed with screened surface water (70 L.day⁻¹) and spiking solution at 0.2 mg.L⁻¹ (250 mL.day⁻¹), resulting in a nominal concentration of about 1 µg.L⁻¹.

In order to assess the impact of the matrix, rotating speed was set to 33 rpm and calibrations were carried out in following matrices: screened surface water, sand-filtered surface water and treated wastewater.

Daily water samples were collected in glass and HDPE bottles and stored frozen until extraction. Physico-chemical parameters of the exposure water were monitored on a daily basis.

For both experiments, triplicate POCIS were retrieved after 3, 5, 12, 17 and 20 days of exposure. They were wrapped in aluminum foil and stored frozen in hermetically closed freezer bags until extraction.

Sampling rate determination procedure

The calculation of sampling rates has already been described in details elsewhere (Vrana et al. 2005). Briefly, assuming that the POCIS are in linear uptake regime, the sampling rate (R_s , in L.day⁻¹) links the mass sampled by POCIS (M_s , in ng) to the time-weighted average (TWA) water concentration (C_w , in ng.L⁻¹) and time (t , in days) according to:

$$M_s = R_s C_w t \quad (1)$$

POCIS were exposed during various durations up to 20 days, and the concentration factor M_s / C_w was plotted against time. Data was fitted with a linear regression and the sampling rate could be deduced from its slope.

Integration of peak events

For this experiment, both tanks of the pilot were fed with treated wastewater. The first tank was continuously spiked at 1 µg.L⁻¹ with the same system as previously described. It represented a background contamination and a reference compared to peak events. Actual water concentrations were assessed experimentally by collecting samples in glass and HDPE bottles on a daily basis.

In the second tank, water was punctually spiked at 10 µg.L⁻¹ in order to mimic three peaks of concentration occurring at the beginning, in the middle and at the end of exposure and lasting one day each. After spiking, the tank was only fed with treated wastewater thus the concentrations decreased until next peak. Water samples were collected before and after each punctual spike, and also 24h after each spike. Exposure duration was limited to 12 days so as to remain in the linear uptake period and thus integrate the variations of concentrations (Booij et al. 2007). POCIS were shifted from one tank to the other at different dates in order to imitate various environmentally relevant scenarios, always with an associated reference to enable proper comparison.






One POCIS replicate was submitted to each scenario described in table 1. One POCIS was left in the tank spiked at 1 µg.L⁻¹ (P1) and was considered as a reference sampler. A POCIS (P2) was

submitted to the initial $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ concentration peak and put back in the $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ tank, while another one (P3) was collected directly after peak exposure. P4 was exposed simultaneously in the reference tank during one day so as to be compared to P3.

Another POCIS (P5) was submitted to the peak in the middle of exposure and put back in the $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ tank, while P6 was collected directly after peak exposure. P7 was exposed simultaneously in the reference tank and was collected at the same time as P6.

Finally, a POCIS (P8) was submitted to the peak in the end of exposure. P9 was left in the second tank throughout all experiment and was thus submitted to the three successive peaks.

Table 1 –Water concentrations (in bold green) to which POCIS were exposed

No concentration peak		P ₁
Concentration peak in the beginning of exposure		P ₂
Concentration peak in the middle of exposure		P ₅
Concentration peak in the end of exposure		P ₈
Three successive peaks		P ₉

LC-MS/MS Analysis

All analyses were performed by liquid-phase chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with an electrospray ionization (ESI) source operated both in positive and negative ion mode. Samples were analyzed on a TSQ Quantum LC-MS/MS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). Analytes were separated chromatographically on a C₁₈ BDS Hypersil column (100 x 2.1 mm, 3 μm particle size). The column was kept at 35°C and 50 μL of sample were injected in the chromatographic system.

Mobile phases were: A - HPLC water + 0.1% formic acid and B - acetonitrile + 0.1% formic acid, at a flow rate of 0.2 mL.min^{-1} . For both ionization modes, the elution gradient program was as follows: the column was equilibrated using 80% A, the gradient was then increased to 100% B within 15 min and held at 100% B for 1 min before returning to the starting conditions at 16.1 min and equilibrated for 10 min before next analysis, resulting in a total run time of 26 minutes.

The LC-MS/MS instrument was operated in positive ionization mode for the analysis of pesticides, steroid hormones and pharmaceuticals. Perfluorinated compounds were analyzed in negative ionization mode. Transitions ions for all compounds, and associated mass spectrometric parameters are provided in table 2.

Table 2 - Mass spectrometric parameters on TSQ Quantum mass spectrometer

Compound	Quantification transition	Collision energy (eV)	Confirmation transition	Collision energy (eV)	Tube lens (V)	Ionization Mode
Atrazine	215.9 > 173.7	26	215.9 > 103.7	39	93	ESI+
<i>Atrazine d5</i>	220.9 > 178.8	26	-	-	93	ESI+
DEA	187.8 > 145.7	25	187.8 > 42.9	27	91	ESI+
DEDIA	145.8 > 103.7	26	145.8 > 78.8	28	95	ESI+
DIA	173.8 > 103.7	30	173.8 > 95.8	27	96	ESI+
<i>DIA d5</i>	178.9 > 136.8	28	-	-	94	ESI+
Diuron	232.8 > 71.8	23	232.8 > 159.6	35	94	ESI+
<i>Diuron d6</i>	238.9 > 77.9	28	-	-	90	ESI+
Hydroxyatrazine	197.9 > 155.8	25	197.9 > 85.8	31	92	ESI+
Metolachlor	283.9 > 251.8	25	283.9 > 175.8	31	85	ESI+
Bezafibrate	362.0 > 138.9	35	362.0 > 316.0	21	106	ESI+
<i>Bezafibrate d6</i>	368.0 > 138.8	35	-	-	106	ESI+
Carbamazepine	237.0 > 194.0	29	237.0 > 193.0	43	101	ESI+
<i>Carbamazepine d10</i>	247.0 > 204.0	32	-	-	103	ESI+
Diclofenac	295.9 > 213.9	45	295.9 > 214.9	28	92	ESI+
<i>Diclofenac d4</i>	299.9 > 217.8	42	-	-	83	ESI+
Sulfamethoxazole	253.9 > 107.9	32	253.9 > 155.8	24	91	ESI+
<i>Sulfamethoxazole ¹³C₆</i>	259.9 > 161.8	24	-	-	97	ESI+
Ethinylestradiol	279.0 > 132.8	25	279.0 > 158.8	31	82	ESI+
17- α -estradiol	255.0 > 158.8	29	255.0 > 158.8	52	86	ESI+
17- β -estradiol	255.0 > 158.8	29	255.0 > 158.8	52	86	ESI+
<i>17-β-estradiol d4</i>	259.0 > 160.8	29	-	-	92	ESI+
Estriol	271.1 > 132.8	28	271.1 > 156.8	42	78	ESI+
Estrone	271.0 > 253.0	12	271.0 > 132.9	12	97	ESI+
<i>Estrone d4</i>	275.0 > 256.9	21	-	-	97	ESI+
Levonorgestrel	313.0 > 108.8	39	313.0 > 244.9	26	104	ESI+
Mestranol	293.0 > 146.8	30	293.0 > 172.8	33	87	ESI+
Norethindrone	299.0 > 90.8	52	299.0 > 108.8	37	104	ESI+
Progestérone	315.0 > 96.8	32	315.0 > 108.8	40	104	ESI+
<i>Progestérone d9</i>	324.0 > 99.8	30	-	-	112	ESI+
Testostérone	289.0 > 96.8	27	289.0 > 108.8	33	105	ESI+
<i>Testostérone d3</i>	292.0 > 96.8	30	-	-	102	ESI+
PFOA	368.8 > 168.8	21	412.7 > 368.8	20	76	ESI-
<i>13C4-PFOA</i>	416.8 > 371.8	21	-	-	92	ESI-
PFOS	498.8 > 79.8	39	498.8 > 498.8	10	115	ESI-
<i>13C4-PFOS</i>	502.8 > 79.8	42	-	-	124	ESI-

Analytes were quantified by injecting a mixture of standard reference compounds at eight different concentrations (5 to 2000 pg/ μ L in the vial).

Results and discussion

Influence of the temperature

Water concentrations were relatively constant in both tanks during the whole calibration. Mean concentrations of the 20 daily samples are presented on figure 2 with associated standard deviations.

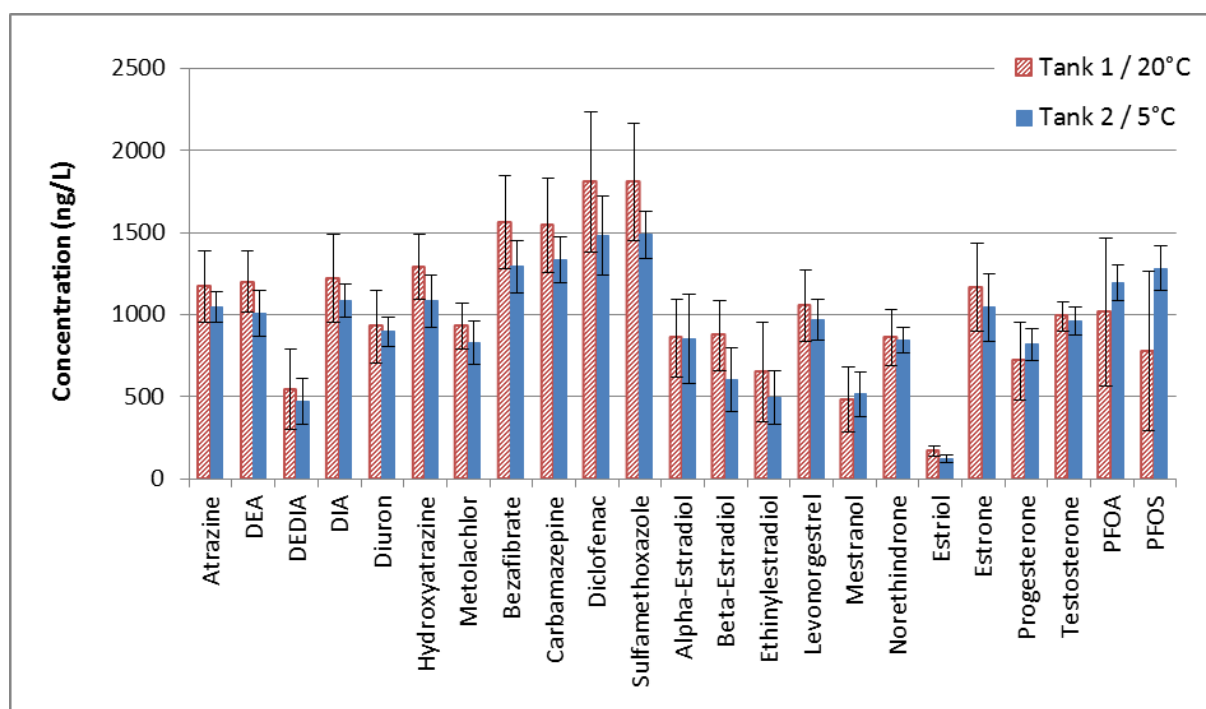


Figure 2 – Mean water concentrations and standard deviations in both tanks during the temperature-controlled calibration (n = 20)

Concentrations reached the nominal value of 1 µg/L for most compounds. Water concentration of DEDIA was about half of the nominal value, which is due to its low breakthrough volume on Oasis HLB sorbent.

Sorption of the more apolar compounds such as ethinylestradiol or mestranol to the material of the calibration system (glass walls, silicone joints, plastic tubing...) may account for the 30-50% lower concentration than nominal value for these compounds.

Concerning estriol, analytical issues (sensitivity, reproducibility) explain the very low values obtained.

For both temperatures, accumulation in the POCIS was curvilinear over 20 days and equilibrium was reached after approximately 15 days. Therefore, linear regressions were carried out over the initial uptake period before equilibrium was reached to estimate the sampling rates.

Resulting sampling rates are presented on figure 3. Compounds that are not presented did not have sufficient uptake linearity ($R^2 > 0.8$) to derive satisfactory R_s values. Error bars represent the relative standard deviations obtained for each triplicate of POCIS, averaged over all exposure times.

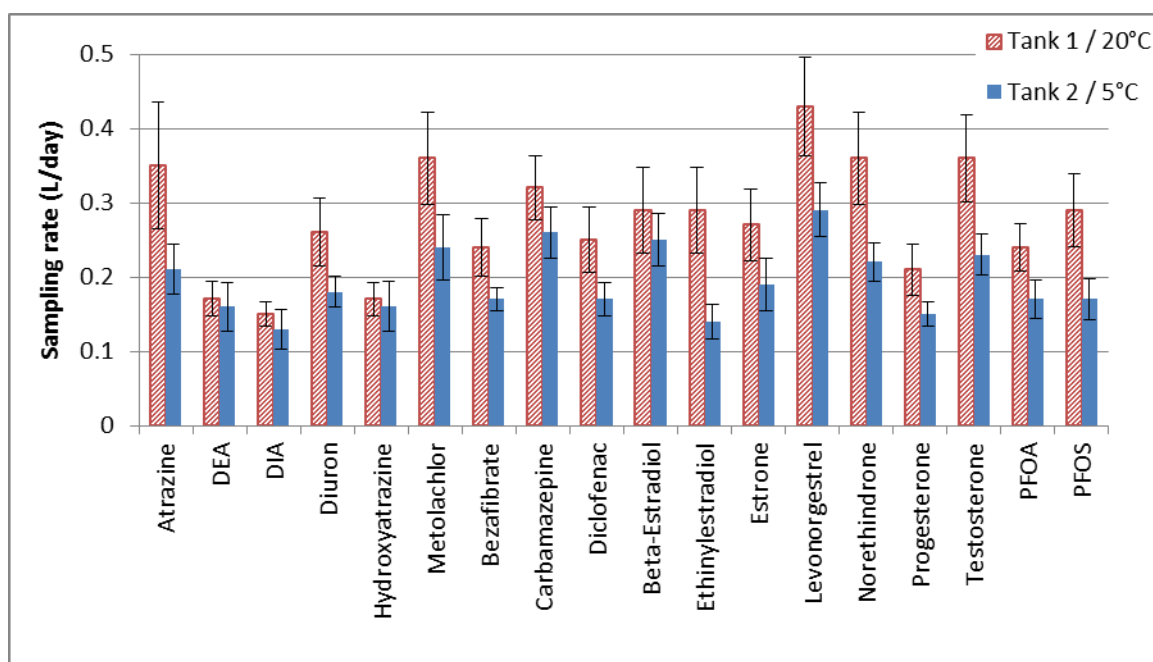


Figure 3 – Influence of the temperature on POCIS sampling rates (n = 3)

Sampling rates were always similar or lower at 5°C than at 20°C. A maximal difference of 50 % between both R_s values was observed for ethinylestradiol, but for most compounds the difference was lower than 40 %. The present results are in agreement with data published in the literature. Togola et Budzinski (2007) have shown that there is an increase in sampling rates between 15°C and 21°C. The authors noticed a two-fold increase for ketoprofen while sampling rates of other compounds remained constant (carbamazepine, naproxen). Li et al. (2010a) also observed a ratio of less than two between sampling rates determined at 5°C and 25°C, and yet it was statistically significant. Bailly et al. (2013) reported a slight increase in R_s for pharmaceuticals at temperatures of 15°C, 20°C and 25°C. However, the increase was not statistically significant from 20°C to 25°C.

Uptake of an analyte into a passive sampler can be, in a simple approach, modelled with a one-dimensional first-order diffusion model, invoking Fick's first law (Stephens et Müller 2007). Accumulation in the passive sampler is either controlled by the water boundary layer or by the mass transfer through the membrane (Alvarez et al. 2007). Whatever the situation, a diffusion coefficient may be introduced to express the sampling rate, a hydrodynamic diffusive mass transfer coefficient or a membrane diffusion coefficient, respectively. In fact, diffusion coefficients increase with temperature according to an Arrhenius relationship (Diffusion - Introduction to materials science for engineers, University of Tennessee). Therefore, experimental results are in agreement with theoretical considerations.

Influence of water flow rate

Physico-chemical parameters of surface water were stable throughout the calibration (Table 3).

Mean water concentrations were lower than the nominal value of $1 \mu\text{g.L}^{-1}$. For most compounds, analyte water concentrations averaged 500 ng.L^{-1} . Although the peristaltic tubing was regularly changed during the experiment, its rapid wear most likely generated a decrease in volumes of spiking solution that were injected daily into the calibration system and resulted in a decrease in water concentrations.

Whatever the water velocity, uptake was linear over about 15 days and sampling rates could be determined for most compounds (Figure 4). Error bars represent the standard deviations obtained for each triplicate of POCIS, averaged over all exposure times.

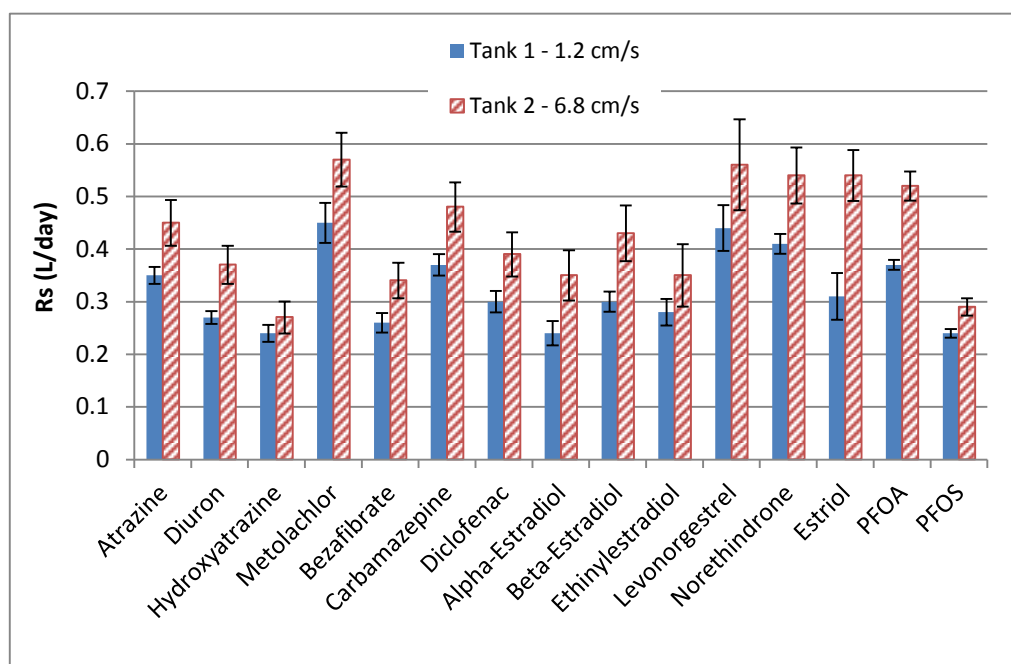


Figure 4 – POCIS sampling rates determined at two different water velocities

A 6-fold increase in water velocity yielded a rise in sampling rates for all target compounds. An average increase of 30% was observed, which seems to be a quite limited extent compared to the ratio between both flow rates.

Numerous studies (Alvarez et al. 2004; Bailly et al. 2013; MacLeod et al. 2007; Li et al. 2010a; Li et al. 2010b; Charlestra et al. 2012) have also reported an increase in POCIS uptake rates when the exposure media was more turbulent. In fact, with a more stirred exposure matrix, the water boundary layer gets thinner and mass transfer into the receiving phase is enhanced.

Nevertheless, in most cases, the reported variation range of R_s was rather narrow (less than a two to three-fold increase) whereas water velocities were selected in a much broader interval (3 to 15-fold increase), which is consistent with the present results.

Influence of the matrix

Three calibrations were carried out in various matrices: river water, sand-filtered surface water and treated wastewater. The characteristics of all matrices stand in table 3.

Table 3 – Physico-chemical parameters measured in the various matrices during calibrations at pilot scale (mean values \pm standard deviations)

		Temperature $^{\circ}\text{C}$	pH	Conductivity $\mu\text{S cm}^{-1}$	Turbidity NTU
Surface water	n = 15	20.5 ± 0.7	7.8 ± 0.1	556 ± 20	7.6 ± 1.1
Sand-filtered surface water	n = 14	22.1 ± 0.6	7.4 ± 0.1	564 ± 53	1.9 ± 0.6
Treated wastewater	n = 15	20.2 ± 1.3	7.6 ± 0.1	1155 ± 36	10.1 ± 3.1

Sampling rates determined in these experimental conditions are presented on figure 5. Error bars represent the standard deviations obtained for each triplicate of POCIS, averaged over all exposure times.

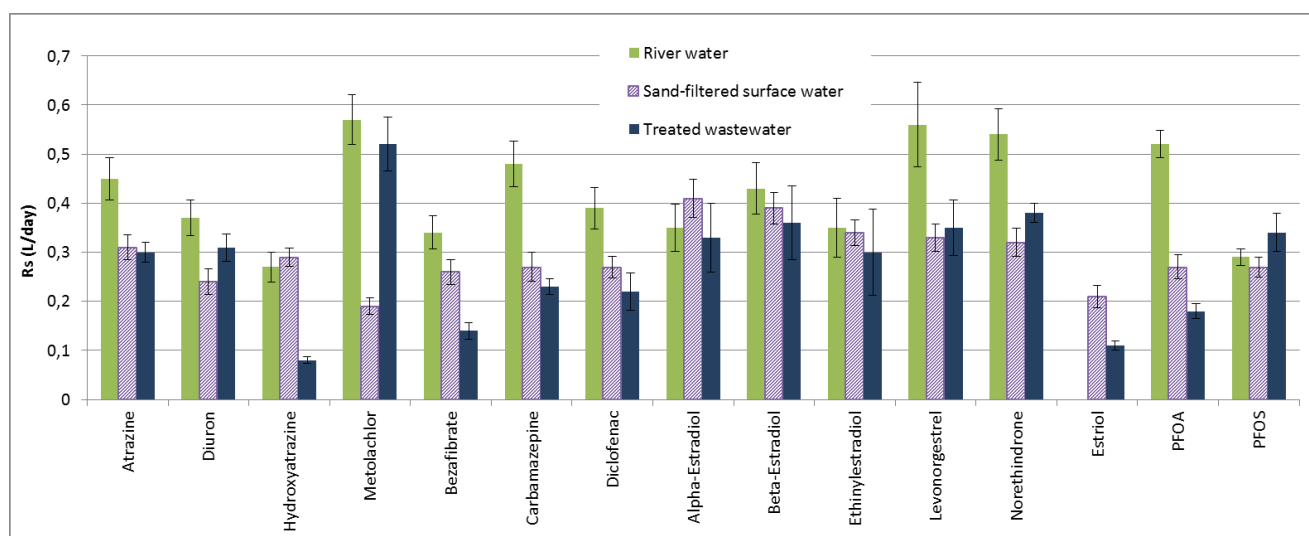


Figure 5 – POCIS sampling rates determined in three different matrices: river water, sand-filtered river water and treated wastewater

For some compounds like atrazine, diuron, diclofenac, PFOS and estrogens, the influence of the matrix appears almost within the analytical uncertainty ($< 30\%$) and can therefore be considered as minor. The variability appears slightly more important for the other compounds like hydroxyatrazine, metolachlor or PFOA (around 50%), which can still be considered as satisfactory.

Published results on the influence of the matrix on POCIS sampling rates are scarce. Some results from field studies include deployments of POCIS upstream, downstream and in the effluent of a WWTP (Jacquet et al. 2012). However, water flow rates were also very different from one site to another and between the river and the WWTP as well. Therefore, it is hard to pull out specifically the influence of the matrix.

Bailly et al. (2013) reported a significantly shorter linear uptake phase in raw wastewater compared to tap water and 40% lower sampling rates for 4 pharmaceuticals. The authors ascribed this result to the presence of organic matter competing with target analytes. However, Li et al. (2011) did not observe a significant change in sampling rates with water spiked with increasing organic matter contents (from 3.3 to 4.9 mg/L). Further studies are thus needed to improve the current knowledge on the impact of the matrix on POCIS uptake rates.

Overall variability of sampling rates

In an attempt to reflect the diversity of the main environmental parameters (temperature, flow rate, matrix) during a field study, the results obtained in all experimental conditions tested in the present work were considered and a global sampling rate variability was estimated. All sampling rate values were included and a relative standard deviation was calculated, representing an overall variability. It was below 40 % for all compounds, except PFOA (46 %), progesterone (47 %) and estriol (63 %). In other words, a TWA concentration estimated from POCIS field exposure could be expressed with a rough 50 % uncertainty. This result is really satisfactory compared to the uncertainty of traditional sampling techniques and taking into account the diversity of the environmental parameters that were included in this comparison.

Response to peak events

As an example, the concentrations of carbamazepine and DEA, in water and in the POCIS are presented on figure 6. The peak occurring in the middle of exposure is presented here but similar conclusions were drawn for the peaks at the beginning and in the end of exposure.

Carbamazepine accumulated linearly in the POCIS left in the tank spiked at $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ throughout the experiment (open squares on figure 6a). Logically, uptake was much steeper for the POCIS submitted to the concentration pulse (full squares on figure 6a). In the end of exposure, concentrations in these POCIS were almost the same as directly after the peak. Thus, even after several days, no desorption occurred and the episodic event would still be detectable compared to reference POCIS (open squares).

Desethylatrazine (DEA) also accumulated linearly in the POCIS left in the reference tank (open circles on figure 6b). The concentration pulse was also integrated by the POCIS (full circles on figure 6b) but a significant decrease in DEA concentration in the POCIS was observed after the samplers were put back in the reference tank at $1 \mu\text{g.L}^{-1}$. Indeed, DEA concentration in the POCIS dropped from $11 \mu\text{g.g}^{-1}$ down to $8 \mu\text{g.g}^{-1}$ within six days. Nevertheless, even for a compound that desorbs from Oasis HLB sorbent like DEA, the peak event would still be detectable after a few days. In fact, even if both (i.e. one submitted to the peak and one reference) POCIS were collected after the 12th day, concentration in both POCIS would still be significantly different, providing evidence of different exposure scenario.

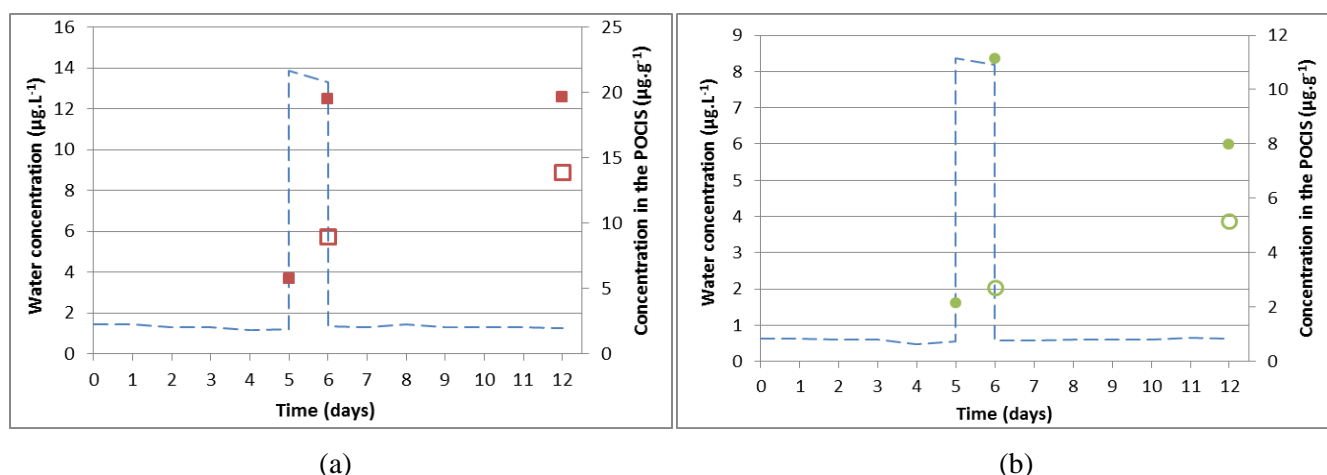


Figure 6 – POCIS response to (a) carbamazepine peak and (b) desethylatrazine peak (the blue dotted lines represent the water concentrations, full squares represent the concentrations in POCIS exposed to the peak of carbamazepine and open squares the concentrations in reference POCIS, full circles represent the concentrations in POCIS exposed to the peak of DEA and open circles the concentrations in reference POCIS)

DEA is slightly more polar ($\log K_{ow} = 1.8$) than carbamazepine ($\log K_{ow} = 2.3$). This explains the difference regarding desorption when POCIS are submitted to low concentrations after the pulse event. Belles et al. (2013) observed a rapid desorption of caffeine ($\log K_{ow} = -0.1$) from pre-exposed POCIS when water concentrations decreased dramatically. Concentrations in the POCIS decreased from 500 ng.g^{-1} to 200 ng.g^{-1} within three days while water concentrations dropped from 80 ng.L^{-1} down to zero. Caffeine is more polar than DEA, which explains its rapid release from the POCIS compared to DEA. Besides, in the article of Mazzella et al. (2008), the TWA concentrations of desethylterbutylazine and terbutylazine estimated by POCIS were in very good agreement with the TWA concentrations calculated with solid-phase extraction, after a concentration pulse.

The present results confirm these literature data and demonstrate the integrative aspect of POCIS for a wide range of compounds over 12 days.

Conclusions

A 15°C temperature rise led to a slight increase of sampling rates (below 40% for most compounds), which is in agreement both with literature results and theoretical considerations. Sampling rates increased with water velocity to a low extent (30%) compared to the 6-times ratio between both flow rates. POCIS were also calibrated in various matrices: surface water, sand-filtered surface water and treated wastewater. It turned out that matrix seems to have a minor influence on sampling rates (30%). These three experiments led to an overall sampling rate variability below 40% for most compounds targeted in this study. Therefore, the POCIS can be considered as a robust tool even in variable environmental conditions, particularly in respect of classical sampling and analytical uncertainties that can reach 20-30% each.

The microcosm experiment simulating concentration peaks enabled to validate the integrative aspect of POCIS over 12 days, which appears therefore totally appropriate for the monitoring of variable water concentrations.

Acknowledgements

The Aquitaine Region and the European Union (CPER A2E project) are acknowledged for their financial support. “Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund”. The ANRT is acknowledged for the PhD grant. This study has been carried out in the framework of the Cluster of Excellence COTE.

Chapitre 4 : Compléments de résultats et discussion

L'objectif de ce chapitre est de présenter et de discuter quelques résultats complémentaires qui n'ont pas été inclus dans les articles, et de faire le lien avec l'ensemble des résultats.

Dans ce chapitre, des résultats de modélisation sont tout d'abord présentés. Ils ont permis d'estimer une vitesse linéaire à la surface des POCIS lors des essais sur le pilote, ainsi que de valider l'homogénéité de ce même dispositif de calibration. Puis des résultats portant sur le POCIS en lui-même (préparation, provenance, extraction) et plus généralement sur sa mise en œuvre sur site, issus à la fois d'essais spécifiques et de retours d'expérience, sont exposés. Enfin, un bilan de tous les taux d'échantillonnage déterminés lors de ces travaux de thèse est présenté.

1. Résultats de modélisation sur le pilote

Outre les résultats de modélisation conduits sur le système utilisé en laboratoire et présentés dans l'article 1, une étude semblable a été menée sur le pilote (Figure 47).

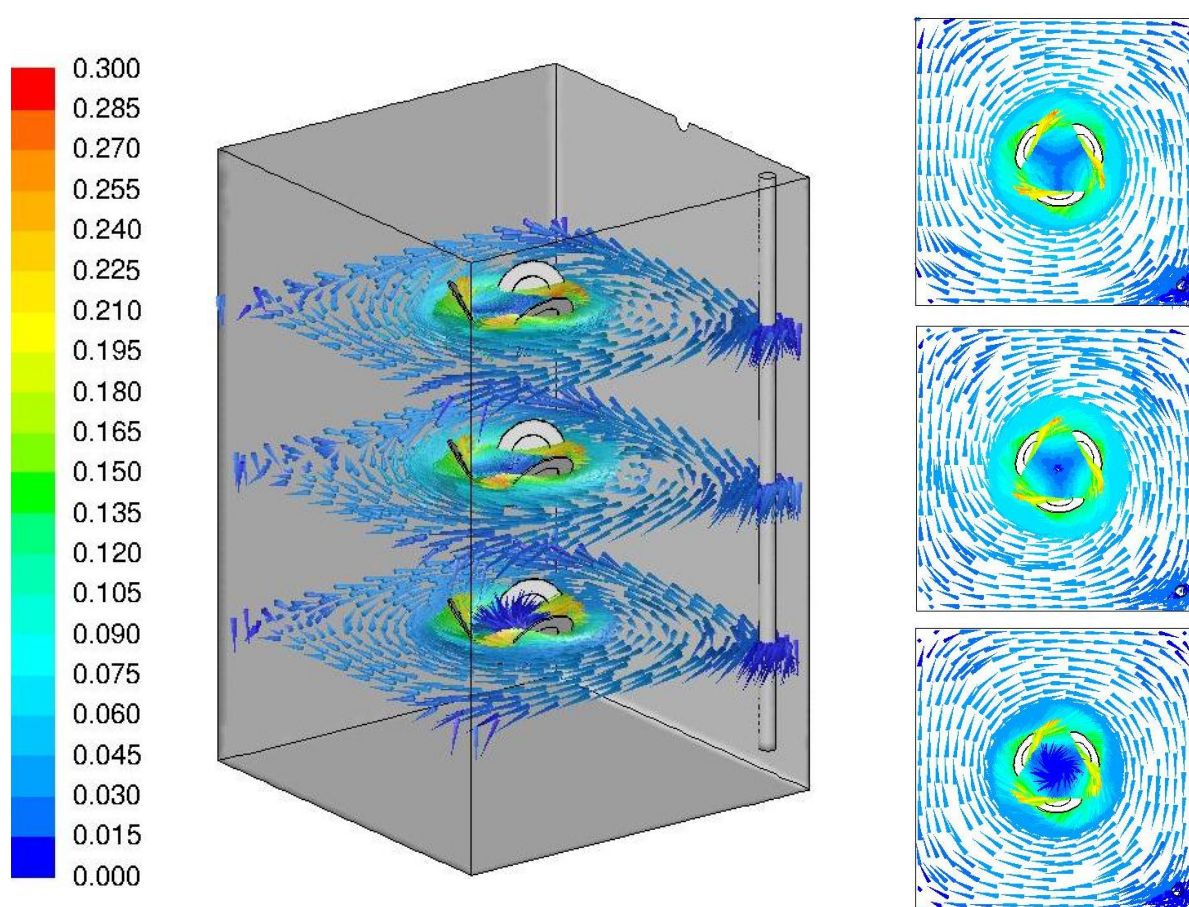


Figure 47 - Profils des vecteurs vitesse colorés par la vitesse (m/s) sur 3 niveaux horizontaux à 33 rpm (à gauche : vue d'ensemble, à droite : vue en coupe de chaque niveau)

La rotation des supports de POCIS génère un écoulement rotationnel dans l'ensemble du volume du récipient, sans zone morte. L'écoulement au niveau de l'ensemble des POCIS peut être considéré comme identique. Des vitesses linéaires des POCIS relativement à l'eau ont pu être déterminées : 1,2 cm/s à 6 rpm et 6,8 cm/s à 33 rpm. Cette démarche s'est avérée essentielle pour réussir à positionner les vitesses linéaires produites par ce dispositif par rapport à celles typiquement rencontrées dans l'environnement. A titre d'exemple, la vitesse linéaire en sortie de la STEP A a été évaluée à 4,4 cm/s, par conséquent le caractère représentatif du pilote a été validé.

Par ailleurs, en simulant l'injection d'un traceur, il est possible d'évaluer le temps nécessaire pour que l'ensemble de la cuve soit homogène. En fixant par exemple à 1 % l'écart de concentration entre les différents POCIS, ce seuil est atteint en 27 minutes à 6 rpm et en 5,5 minutes à 33 rpm. Par conséquent, en observant un délai de 2 jours d'équilibrage avant d'immerger les POCIS comme c'est le cas lors des calibrations sur ce dispositif, le milieu d'exposition peut être considéré comme parfaitement homogène lors de l'immersion des POCIS.

Cette étude a donc permis de valider l'homogénéité du milieu au sein du pilote, et ainsi de s'assurer que tous les POCIS sont exposés à une concentration semblable.

2. Préparation et extraction des POCIS

2.1 Quantité de phase HLB

Dans une optique de diminution des coûts de l'outil, un essai a été réalisé en calibrant des POCIS comportant 200 mg et 50 mg de phase Oasis HLB. Une accumulation curvilinéaire a été observée pour quasiment tous les composés. Pour les POCIS comportant 50 mg de phase HLB, l'équilibre semble atteint plus rapidement que pour les POCIS ayant 200 mg de phase (environ 12 jours vs. 17 jours). De plus, les quantités accumulées sont plus importantes lorsqu'il y a 200 mg d'adsorbant. A titre d'exemple, l'accumulation du bézafibrate avec 50 et 200 mg de phase est présentée sur la figure 48 :

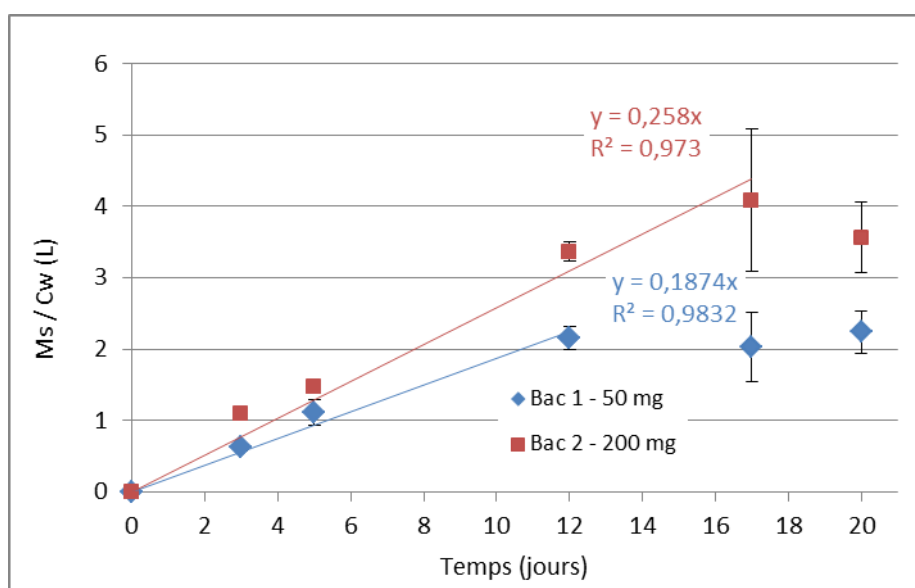


Figure 48 - Accumulation du bézafibrate dans des POCIS comportant 50 et 200 mg de phase Oasis HLB exposés dans de l'eau filtrée sur sable dopée à 1 µg/L (n = 3)

Les pentes à l'origine (i.e. les taux d'échantillonnage) sont relativement proches mais l'utilisation de 50 mg de phase Oasis HLB raccourcit la durée de la période d'accumulation linéaire. L'ensemble des taux d'échantillonnage qui ont pu être déterminés lors de cet essai sont présentés sur la figure 49.

Les taux d'échantillonnage obtenus avec 200 mg de phase HLB sont légèrement supérieurs à ceux obtenus avec 50 mg de phase, en tenant compte de la variabilité entre triplicats de POCIS. Toutefois, ils restent du même ordre de grandeur pour la plupart des composés, et même très proches pour l'œstriol, le diuron, l'œstrone et le métolachlor. Cela signifie que l'accumulation des composés démarre de la même manière quelle que soit la masse de phase réceptrice, mais que la courbe s'incurve d'abord pour les POCIS comportant moins de phase. Les quantités accumulées en fin d'exposition sont globalement plus faibles avec 50 mg de phase réceptrice.

Par conséquent, sur une durée d'exposition courte (quelques jours), les deux types d'outils sont quasiment équivalents. Toutefois, un déploiement court entraîne une accumulation de composés moindre, et par conséquent une sensibilité moindre. L'outil comportant 50 mg de phase ne pourrait donc être utilisé que dans un milieu relativement chargé, pour lequel la diminution de sensibilité ne serait pas un facteur limitant.

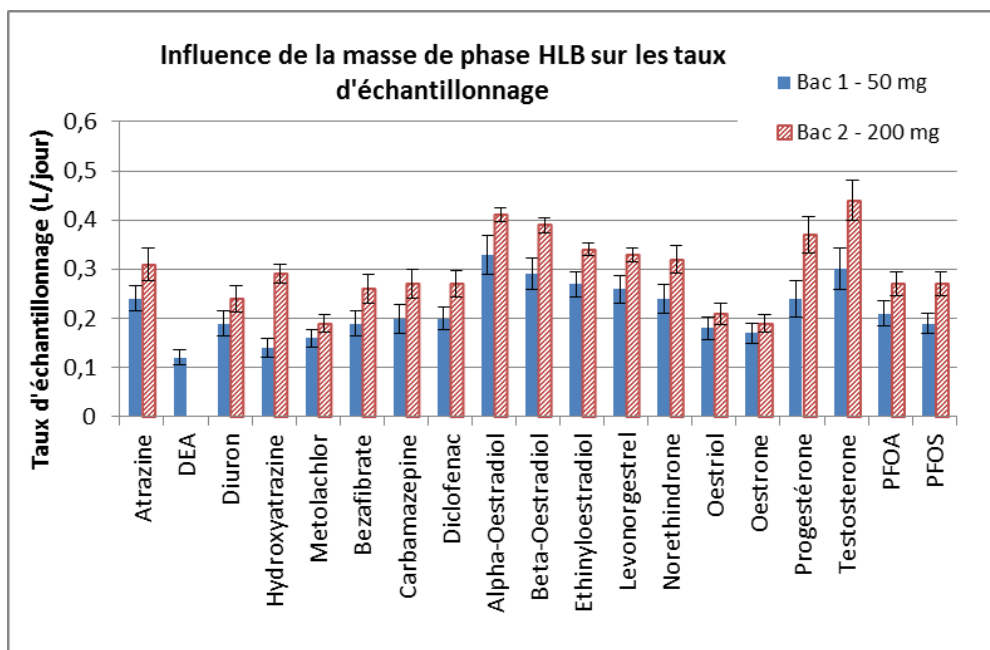


Figure 49 - Taux d'échantillonnage obtenus avec 50 et 200 mg de phase Oasis HLB (n = 3)

2.2 Ajout de cuivre

Lors d'une calibration en eau usée traitée, 50 mg de cuivre ont été ajoutés aux 200 mg de phase Oasis HLB, et les taux d'échantillonnage de ces POCIS ont été comparés à ceux de POCIS standard. Les taux d'échantillonnage obtenus dans ces deux conditions sont présentés sur la figure 50.

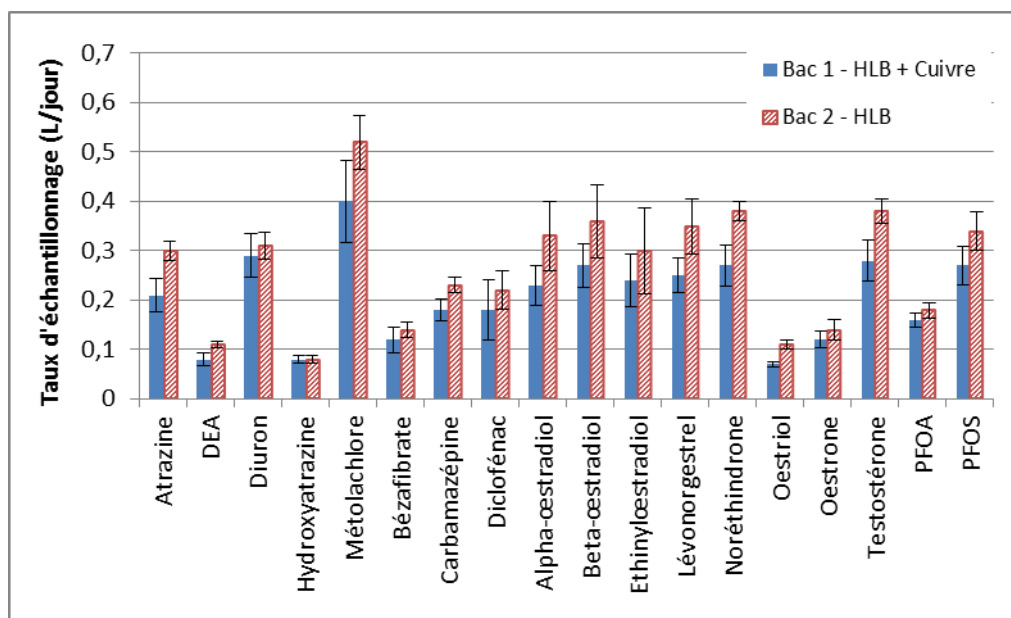


Figure 50 - Influence de la présence de cuivre sur les taux d'échantillonnage (n = 2)

De manière générale, l'impact de la présence de cuivre sur les taux d'échantillonnage est faible (< 30 % pour tous les composés sauf l'œstriol : 36 %). Cette variabilité est d'autant plus faible que la

masse de phase récupérée pour les POCIS avec cuivre n'est pas précisément connue. En effet, environ 250 mg ont été récupérés après transfert dans la cartouche SPE vide, mais la contribution du cuivre dans le potentiel adsorbant de l'outil a été négligée, i.e. les quantités d'analytes déterminées par analyse instrumentale ont été corrigées avec la masse théorique de 200 mg de phase, sans tenir compte des 50 mg de cuivre.

Par conséquent, s'il s'avère limiter la formation de biofilm, l'ajout de cuivre pourra donc être pratiqué sans modifier fondamentalement les propriétés de l'outil.

Des observations au MEB ont montré que lors de cette calibration en eau usée traitée, la formation de biofilm après 20 jours d'exposition est très limitée. Les pores de la membrane ne semblent pas « bouchés » après une telle exposition, quel que soit le design du POCIS considéré (avec ou sans cuivre). L'absence de biofilm dans les deux conditions expérimentales n'a pas permis de tirer de conclusion nette quant à l'apport de l'ajout de cuivre dans la phase réceptrice vis-à-vis du biofouling.

Un tel essai pourrait être répété sur un site où un important développement de biofilm est observé, d'autant plus que le potentiel de ce métal dans la limitation du biofilm est avéré. En effet, l'étude de Gonzalez et al. (2012) a montré que l'utilisation de matériaux en cuivre, comme les anneaux de POCIS, ou dans une moindre mesure la cage d'exposition, est très efficace pour lutter contre la formation de biofilm.

2.3 Orientation des membranes en PES

Suite aux observations réalisées au MEB et ayant mis en évidence la différence de structure entre les deux faces des membranes, deux lots de POCIS ont été préparés : un premier avec les faces mates des membranes vers l'extérieur, et un second avec les faces brillantes vers l'extérieur. Ainsi, l'ensemble des situations pouvant se produire en montant les POCIS de manière aléatoire sont couvertes en testant ces deux configurations « extrêmes ».

Les deux lots de POCIS ont été exposés en rivière, en aval de la STEP B, et les taux d'échantillonnage associés ont été calculés. Comme cet essai n'a pas été réalisé en réplicats, aucun écart-type n'a pu être précisé.

Il s'est avéré que les taux d'échantillonnage étaient très proches quelle que soit la configuration adoptée (Tableau 49).

Tableau 49 - Taux d'échantillonnage obtenus avec les deux orientations des membranes en PES

Composé	Taux d'échantillonnage (L/jour)	
	Côté mat vers l'extérieur	Côté brillant vers l'extérieur
Atrazine	0,18	0,14
Diuron	0,14	0,15
Métolachlore	0,10	0,10
Bézafibrate	0,11	0,12
Carbamazépine	0,18	0,22
Diclofénac	0,14	0,15
PFOA	0,20	0,30
PFOS	0,15	0,19

Par conséquent, l'orientation des membranes en PES n'impacte pas de façon majeure le taux d'échantillonnage ; les POCIS peuvent donc être montés sans apporter d'attention particulière à leur sens.

2.4 Provenance des POCIS

Dans le cadre de cette thèse, les POCIS ont été majoritairement confectionnés au laboratoire. Un lot a été acheté au fournisseur Exposmeter (Tavelsjö, Suède) et a été utilisé pour l'essai simulant les pics de pollution. De plus, lors de l'EIL organisé par le réseau NORMAN², un lot de POCIS a été préparé par les organisateurs et envoyés aux participants. La comparaison des résultats obtenus lors de ces différents essais permet donc de documenter la robustesse de la procédure de préparation des échantillonneurs.

Lors de l'essai simulant les pics de pollution, seul le lot fourni par Exposmeter a été employé ce qui limite toute comparaison directe avec des POCIS préparés au laboratoire. Néanmoins, il est possible d'estimer des taux d'échantillonnage à partir des quantités accumulées dans les POCIS exposés uniquement à 1 µg/L (témoins). Trois POCIS i.e. trois temps d'exposition peuvent être pris en compte : 1 jour, 6 jours et 12 jours. Ce nombre de points est faible pour construire une courbe d'accumulation et en tirer une pente fiable, mais il est suffisant pour comparer grossièrement les résultats obtenus avec les POCIS commercialisés par Exposmeter et ceux fabriqués au laboratoire. Ces résultats ont été confrontés à ceux obtenus dans les mêmes conditions de matrice et d'agitation (essai n°6 réalisé en eau usée traitée sur le pilote) et figurent dans le tableau 50. L'absence de réplicats ne permet pas d'estimer d'écarts-types.

Tableau 50 - Taux d'échantillonnage obtenus dans les mêmes conditions expérimentales avec les POCIS commerciaux et avec les POCIS fabriqués au laboratoire

Composé	Taux d'échantillonnage (L/jour)	
	POCIS commerciaux	POCIS préparés au laboratoire
Atrazine	0,19	0,30
Diuron	0,26	0,31
Bezafibrate	0,12	0,14
Carbamazépine	0,19	0,23
Diclofénac	0,14	0,22
PFOA	0,19	0,18

Au vu du nombre limité de points utilisés pour estimer un taux d'échantillonnage dans le cas des POCIS commerciaux, l'écart entre les deux taux d'échantillonnage peut être considéré comme faible.

Par conséquent, quelle que soit l'origine des POCIS (commerciaux ou préparés au laboratoire), on peut s'attendre à des résultats comparables.

Par ailleurs, suite à l'EIL NORMAN, il a été possible de comparer les quantités accumulées dans nos POCIS d'une part, et les POCIS fournis par les organisateurs d'autre part. Sur la figure 51 sont représentées les quantités accumulées dans les deux types de POCIS, chaque point représentant un

² <http://www.norman-network.net>

composé. Une très bonne adéquation a été constatée entre les deux lots de POCIS, sans qu'aucun point ne s'écarte de manière significative de la première bissectrice.

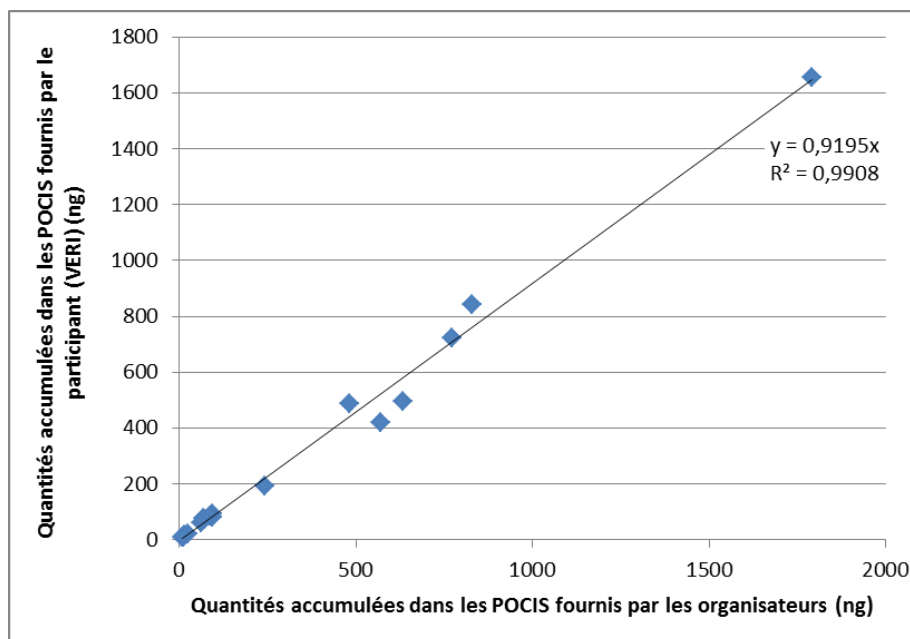


Figure 51 - Corrélation entre les quantités de composés dosées dans les POCIS fournis par les organisateurs et dans les POCIS fournis par le participant (VERI) (n = 18)

Les différences potentielles entre les techniques de préparation des POCIS dans les deux laboratoires ne se traduisent pas par une différence entre les quantités de composés piégés par les dispositifs. Il apparaît donc possible d'utiliser les POCIS pour des programmes de suivi à grande échelle et impliquant plusieurs partenaires.

2.5 Protocoles d'extraction des POCIS

Dans le cadre d'inter-comparaisons entre utilisateurs d'échantillonneurs passifs, il serait souhaitable d'harmoniser les protocoles d'extraction de la phase des POCIS afin que la performance analytique puisse être dissociée d'autres caractéristiques propres au laboratoire, comme le rendement d'extraction du protocole.

La plupart des utilisateurs d'échantillonneurs passifs utilisent par exemple du méthanol pour transférer la phase réceptrice du POCIS dans les cartouches SPE. Cette stratégie est susceptible d'occasionner des pertes de composés ciblés, de par le pouvoir éluant de ce solvant.

Soulier (2012) a comparé les deux techniques de transfert de la phase Oasis HLB et il s'est avéré que pour certains composés comme le NP1EC (acide nonylphénoxyacétique), les quantités récupérées en utilisant l'eau comme solvant de transfert sont jusqu'à 34 fois plus importantes que lorsque le méthanol est employé...

En conclusion, le protocole de préparation des POCIS apparaît donc comme robuste et *a priori* facilement transposable d'un opérateur à un autre sans impact sur la qualité des résultats obtenus. En

revanche, il serait pertinent de développer un protocole d'extraction à spectre large qui puisse être employé par la majorité des utilisateurs de POCIS.

3. Mise en œuvre sur site

3.1 Débit

L'effluent de la station d'épuration B a un débit très important (environ $3 \text{ m}^3/\text{seconde}$). Le point d'exposition choisi de prime abord était situé dans un canal très étroit, dans lequel la vitesse linéaire de l'eau était d'autant plus élevée. Après trois jours d'exposition, les membranes des POCIS avaient explosé à cause de la pression imposée par ce débit trop fort (Figure 52).



Figure 52 - Etat des membranes de POCIS après trois jours d'exposition dans l'effluent de la STEP B

Malgré la cage de protection qui est censée tamponner un peu le débit, les six POCIS dans cette cage étaient totalement inexploitable. Il semblerait donc qu'il existe un débit, ou plus exactement une vitesse linéaire, à ne pas dépasser afin de garantir l'intégrité de l'outil. A l'avenir, et dans une perspective d'utilisation du POCIS à grande échelle sur des sites aux débits variés, il serait pertinent d'estimer ce débit maximal.

3.2 Exposition des POCIS

Les travaux de thèse de Belles (2012) ont montré que l'orientation des POCIS pouvait avoir une influence sur le transfert entre le milieu et l'échantillonneur. En effet, la vitesse de dissipation du PRC utilisé (DIA-d5) varie de manière importante suivant que les POCIS sont disposés horizontalement ($0,2 \text{ j}^{-1}$) ou verticalement ($0,05 \text{ j}^{-1}$).

Ce phénomène peut s'expliquer par le tassement de la phase vers le bas du POCIS lorsque ce dernier est en position verticale, et par suite une diminution de la surface d'échange « efficace » avec le milieu environnant. L'auteur a évalué la surface de la membrane en contact direct avec la phase Oasis HLB à 23 % de la surface totale lorsque le POCIS est disposé verticalement.

Les membranes en polycarbonate présentent l'avantage d'être transparentes. Lors de l'essai incluant ce type de membrane, cette observation a pu être confirmée (Figure 53).

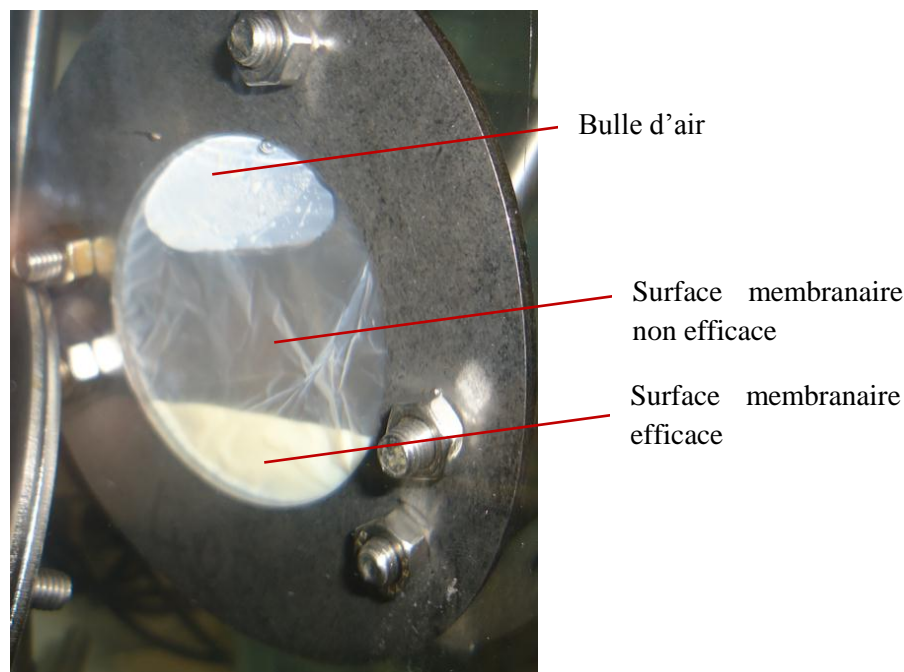


Figure 53 - Répartition de la phase Oasis HLB dans un POCIS immergé

Sur le terrain, les POCIS sont généralement exposés quasi-verticalement sur des supports commerciaux (*holders*). Par conséquent, il est nécessaire de mener des calibrations avec une configuration identique pour ne pas introduire de biais supplémentaire entre le laboratoire et le terrain.

Pour l'ensemble des calibrations réalisées au laboratoire ou sur pilote dans le cadre de ces travaux, les POCIS étaient disposés sur des holders pour s'approcher le plus possible de la configuration *in-situ*.

3.3 Influence du dispositif de déploiement

Des taux d'échantillonnage ont été évalués avec et sans cage d'exposition commerciale (cf. Figure 43, page 165). En effet, l'utilisation d'un dispositif de déploiement différent peut engendrer un hydrodynamisme différent, et donc potentiellement un effet sur le taux d'échantillonnage.

Il s'avère que les deux dispositifs de déploiement fournissent des taux d'échantillonnage semblables (Tableau 51). Par conséquent, en fonction de la configuration du site d'étude (hauteur d'eau, facilité d'arrimage, possibilités d'obstruction...), ils pourront être utilisés de manière indifférente.

Tableau 51 - Taux d'échantillonnage obtenus avec les deux dispositifs de déploiement : avec la cage commerciale (Exposmeter) et sans cage, avec un grillage de protection (n = 2)

Composé	Taux d'échantillonnage (L/jour)	
	Avec cage	Sans cage
Atrazine	0,20 ± 0,02	0,21 ± 0,01
Diuron	0,24 ± 0,04	0,24 ± 0,01
Hydroxyatrazine	0,13 ± 0,01	0,14 ± 0,01
Métolachlore	0,28 ± 0,03	0,31 ± 0,03

Bézafrate	$0,19 \pm 0,02$	$0,18 \pm 0,01$
Carbamazépine	$0,23 \pm 0,03$	$0,22 \pm 0,01$
Diclofénac	$0,25 \pm 0,03$	$0,23 \pm 0,01$
Sulfaméthoxazole	$0,17 \pm 0,03$	$0,20 \pm 0,02$
PFOA	$0,29 \pm 0,04$	$0,38 \pm 0,03$

Ce résultat peut s'expliquer par l'agitation qui devait vraisemblablement être suffisante dans le milieu échantillonné pour que la cinétique d'accumulation soit sous contrôle membranaire, et non pas gouvernée par la vitesse de diffusion à travers la couche limite d'eau. Les conditions hydrodynamiques, et donc la présence de la cage, n'affectent pas le taux d'échantillonnage dans ce cas.

Ces résultats confirment ceux obtenus par Belles (2012) qui, lors d'une calibration en laboratoire, n'observe pas d'effet de la cage, quelle que soit sa taille (3 ou 6 POCIS) par rapport aux échantillonneurs seuls.

3.4 Influence de la matrice

Lors du déploiement sur le site B (présenté au paragraphe 6.5.1.2, page 158), les POCIS ont été exposés à la fois en amont (eau de surface), dans l'effluent de la STEP (eau usée traitée) et en aval (matrice intermédiaire résultant du mélange entre les deux apports). Même si la comparaison est moins rigoureuse que celle menée sur le pilote dans des conditions expérimentales strictement identiques (article n°5), la comparaison des taux d'échantillonnage obtenus aux trois points permet de conforter les conclusions tirées lors de cet essai.

Les taux d'échantillonnage *in-situ* déterminés en amont, en aval et dans l'effluent du site B sont présentés sur la figure 54. L'absence de réplicats ne permet pas d'estimer d'écarts-types.

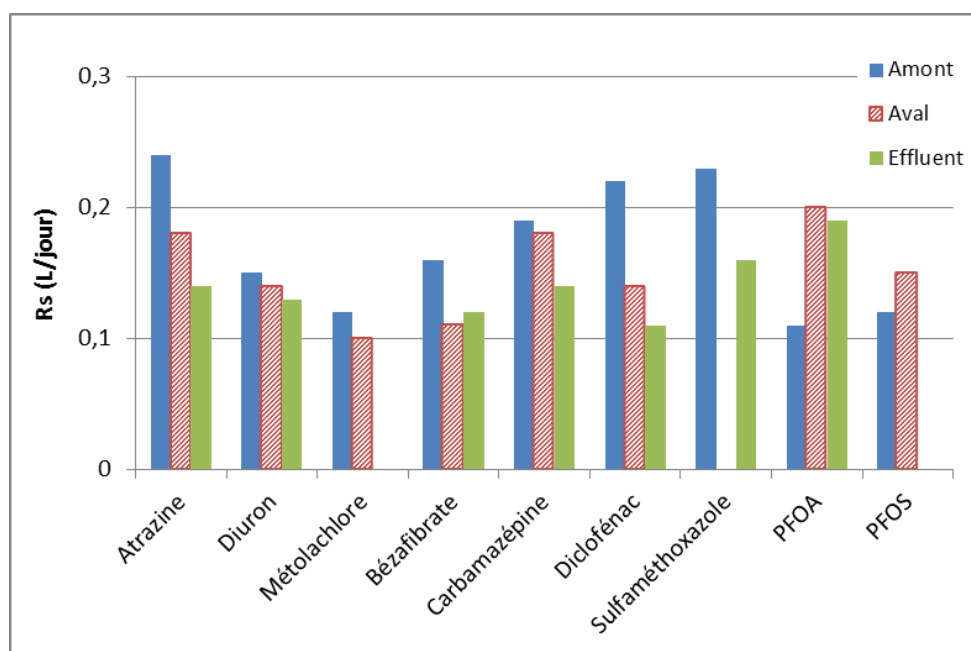


Figure 54 - Influence de la matrice sur les taux d'échantillonnage déterminés sur le site B

Pour la plupart des composés (excepté le sulfaméthoxazole et le diclofénac), le coefficient de variation est inférieur à 30 %, ce qui confirme les résultats obtenus sur le pilote et présentés dans l'article 5 (variabilité inférieure à 30 % pour la plupart des composés).

L'influence de la matrice sur le taux d'échantillonnage n'est donc pas significative au regard de l'incertitude analytique, généralement autour de 20-30%.

3.5 Température de stockage

Suite à une calibration sur le pilote en eau usée traitée (essai n°6), pour chaque triplicat de POCIS retiré du bac d'exposition, un POCIS a été stocké au réfrigérateur à 4°C et un duplicat de POCIS a été stocké au congélateur à -20°C. Tous les POCIS ont ensuite subi l'extraction et l'analyse de la même manière et les quantités de composés dosées dans chaque type de POCIS ont ensuite été comparées afin de statuer sur la nécessité de congeler les POCIS après exposition.

Deux lots en particulier sont comparés : les POCIS retirés après 3 jours d'exposition (T3) et ceux retirés en fin d'essai après 20 jours d'exposition (T20). En effet, les POCIS retirés à T3 ont accumulé des quantités de composés faibles mais ont subi des durées de stockage relativement longues (21 jours). A l'inverse, les POCIS retirés à T20 ont accumulé des quantités de composés maximales mais ont subi des durées de stockage courtes (4 jours). Ces deux lots présentent donc *a priori* deux comportements extrêmes vis-à-vis du stockage.

En ne tenant pas compte des composés présentant un comportement particulier (DEDIA, mestranol, progestérone, éthinylœstradiol), il ressort qu'un écart relatif moyen de 17% est observé entre les concentrations des POCIS exposés 3 jours et stockés à 4°C ou à -20°C. Un écart relatif moyen de 7% est observé entre les concentrations des POCIS exposés 20 jours et stockés à 4°C ou à -20°C.

Ces différences sont négligeables et permettent de conclure que les deux modes de stockage sont équivalents sur des durées typiques de quelques jours à quelques semaines. En fonction des possibilités logistiques du laboratoire, l'une ou l'autre option pourra donc être choisie.

Toutefois, d'un point de vue pratique, la mise en cartouche de la phase est plus aisée avec de la phase HLB congelée car elle a une consistance « pâteuse », ce qui la rend plus facile à transférer dans la cartouche sans perte par rapport à la phase non congelée, qui est dispersée dans l'eau à l'état liquide. De ce fait la congélation sera privilégiée lorsque les deux modes de stockage sont disponibles.

4. Interprétation des résultats

4.1 Types de cinétiques d'accumulation

Au cours de ces travaux, trois types de cinétiques d'accumulation distinctes ont été mises en évidence :

- Une accumulation linéaire, lors de laquelle la quantité séquestrée dans le POCIS est directement proportionnelle au temps d'exposition et à la concentration dans l'eau. Ce type de cinétique a généralement été observé pour les composés de polarité moyenne.
- Une accumulation curvilinéaire, lors de laquelle l'état d'équilibre entre l'eau et l'échantillonneur est atteint rapidement (quelques jours). Ce type de cinétique a généralement été observé pour les composés de polarité élevée, comme la DIA par exemple.
- Un retard à l'accumulation, également appelé *lag-effect*, lors duquel les quantités accumulées au cours des premiers jours d'exposition sont négligeables. Ce type de cinétique a généralement été observé pour les composés relativement apolaires, comme le mestranol par exemple.

A partir de ces différents types de cinétiques d'accumulation, les composés ciblés dans cette étude ont pu être répartis dans trois groupes (Tableau 52).

Tableau 52 - Répartition des analytes dans différents groupes en fonction de leur type de cinétique d'accumulation

	Groupe 1 Cinétique d'accumulation curvilinéaire	Groupe 2 Cinétique d'accumulation linéaire	Groupe 3 Cinétique d'accumulation présentant un <i>lag-effect</i>
Composés	DEDIA, DIA, sulfaméthoxazole	DEA, hydroxyatrazine, atrazine, diuron, métolachlore, bézafibrate, carbamazépine, diclofénac, œstrone, œstriol, 17 α -œstradiol, 17 β -œstradiol, éthinyloœstradiol, lévonorgestrel, noréthindrone, progestérone, testostérone, PFOA, PFOS	mestranol
Gamme de log K _{ow}	0 < log K _{ow} < 1,4	1,4 < log K _{ow} < 4,2	4,7
Type d'application	Présence / absence Screening	Semi-quantitatif Intégratif	Présence / absence Screening

4.2 Synthèse de l'ensemble des taux d'échantillonnage obtenus

Lors des différents essais réalisés dans le cadre de cette étude, de nombreuses valeurs de taux d'échantillonnage ont été générées. Tous les taux d'échantillonnage déterminés dans des conditions pertinentes et comparables ont été compilés dans le tableau 54. En ont été exclus les taux d'échantillonnage déterminés avec des POCIS comportant des modifications de design (membranes

PC ou Nylon, phase HLB-SDB, 50 mg de phase Oasis HLB ou cuivre mélangé à la phase HLB). Seule la configuration avec la membrane en PES et 200 mg de phase HLB a été prise en compte pour construire ce tableau.

Des taux d'échantillonnage moyens ont ensuite été évalués, ainsi qu'un écart-type et un coefficient de variation (CV). Le nombre de données (n) prises en compte pour ces statistiques est également fourni. Dès lors, le jeu de taux d'échantillonnage moyens est susceptible d'être utilisé pour estimer des concentrations dans l'eau, suite à une exposition sur site. Il convient néanmoins de distinguer différents niveaux de confiance relatifs (élevé, moyen et faible) qu'il est possible d'accorder aux taux d'échantillonnage, de manière à les utiliser avec un maximum de recul.

Pour établir cette classification, deux critères ont été pris en compte :

- Le nombre de données utilisées pour calculer le taux d'échantillonnage moyen (n) :
 - n supérieur ou égal à 10
 - n compris entre 5 et 10
 - n inférieur à 5
- La robustesse de ces mêmes données via le CV
 - CV inférieur à 40 %
 - CV compris entre 40 et 50 %
 - CV supérieur à 50 %

Tableau 53 - Niveaux de confiance relatifs des taux d'échantillonnage

	n > 10	5 < n < 10	n < 5
CV < 40 %	Elevé	Moyen	Faible
40 % < CV < 50 %	Moyen	Moyen	Faible
CV > 50 %	Faible	Faible	Faible

Tableau 54 - Ensemble des taux d'échantillonnage déterminés dans le cadre de cette étude

Taux d'échantillonnage L/jour	Type de calibration	Laboratoire	Laboratoire	Laboratoire	Laboratoire	Pilote	Pilote	Pilote	Pilote	<i>In-situ</i> Site A	<i>In-situ</i> Site A
	Matrice	Eau distribuée	Eau distribuée	Eau distribuée	Eau distribuée	Eau de surface	Eau de surface	Eau de surface filtrée sur sable	Eau usée traitée	Eau usée traitée	Eau usée traitée
	Conditions	Agitation 45 rpm	Agitation 45 rpm	5°C	20°C	6 rpm 1,2 cm/s	33 rpm 6,8 cm/s	33 rpm 6,8 cm/s	33 rpm 6,8 cm/s	Avec cage	Sans cage
PESTICIDES	Atrazine	ND	0,31	0,21	0,35	0,35	0,45	0,31	0,30	0,20	0,21
	DEA	ND	0,19	0,16	0,170	curvi	curvi	curvi	0,11	ND	ND
	DEDIA	ND	curvi	curvi	curvi	curvi	curvi	curvi	curvi	ND	ND
	DIA	ND	curvi	curvi	curvi	curvi	curvi	curvi	curvi	ND	ND
	Diuron	ND	0,19	0,18	0,26	0,27	0,37	0,24	0,31	0,24	0,24
	Hydroxyatrazine	ND	0,24	0,16	0,17	0,24	0,27	0,29	0,08	0,13	0,14
	Métolachlor	ND	0,36	0,24	0,36	0,45	0,57	0,19	0,52	0,28	0,31
COMPOSES PHARMACEUTIQUES	Bézafibrate	0,10	0,21	0,17	0,24	0,26	0,34	0,26	0,14	0,19	0,18
	Carbamazépine	0,33	0,19	0,26	0,32	0,37	0,48	0,27	0,23	0,23	0,22
	Diclofénac	0,38	0,23	0,17	0,25	0,30	0,39	0,27	0,22	0,25	0,23
	Sulfaméthoxazole	curvi	curvi	curvi	curvi	curvi	curvi	curvi	curvi	0,17	0,20
HORMONES STEROIDIENNES	Ethinylœstradiol	0,25	0,14	0,14	0,29	0,28	0,35	0,34	0,30	ND	ND
	Lévonorgestrel	0,68	0,11	0,29	0,43	0,44	0,56	0,33	0,35	ND	ND
	Mestranol	lag	lag	lag	lag	lag	lag	lag	lag	ND	ND
	Noréthindrone	0,47	0,30	0,22	0,36	0,41	0,54	0,32	0,38	ND	ND
	17alpha-Œstradiol	0,38	0,13	0,18	na	0,24	0,35	0,41	0,33	ND	ND
	17beta-Œstradiol	0,56	0,28	0,25	0,29	0,30	0,43	0,39	0,36	ND	ND
	Œstriol	0,29	curvi	na	na	curvi	curvi	0,21	0,11	ND	ND
	Œstrone	0,32	0,19	0,19	0,27	ND	ND	0,19	0,14	ND	ND
	Progestérone	0,38	0,14	0,15	0,21	ND	ND	0,37	ND	ND	ND

Taux d'échantil- lonnage L/jour	Type de calibration	Laboratoire	Laboratoire	Laboratoire	Laboratoire	Pilote	Pilote	Pilote	Pilote	<i>In-situ</i> Site A	<i>In-situ</i> Site A
	Matrice	Eau distribuée	Eau distribuée	Eau distribuée	Eau distribuée	Eau de surface	Eau de surface	Eau de surface filtrée sur sable	Eau usée traitée	Eau usée traitée	Eau usée traitée
	Conditions	Agitation 45 rpm	Agitation 45 rpm	5°C	20°C	6 rpm 1,2 cm/s	33 rpm 6,8 cm/s	33 rpm 6,8 cm/s	33 rpm 6,8 cm/s	Avec cage	Sans cage
	Testostérone	0,46	0,27	0,23	0,36	ND	ND	0,44	0,38	ND	ND
PERFL UORE S	PFOA	ND	0,20	0,17	0,24	0,37	0,52	0,27	0,18	0,29	0,38
	PFOS	ND	0,14	0,17	0,29	0,24	0,29	0,27	0,34	0,25	NA

ND : composé non présent en concentration suffisante ou non inclus dans l'essai

curvi : accumulation curvilinéaire

lag : accumulation avec *lag-effect*

NA : taux d'échantillonnage non calculable (linéarité insuffisante, $R^2 < 0,8$)

Tableau 54 (suite) - Ensemble des taux d'échantillonnage déterminés dans le cadre de cette étude

Taux d'échantillonnage L/jour	Type de calibration	<i>In-situ</i> Site A	<i>In-situ</i> Site A	<i>In-situ</i> Site B	<i>In-situ</i> Site B	<i>In-situ</i> Site B	<i>In-situ</i> Site B	<i>In-situ</i> Site B	MOYEN-NE	ECART-TYPE	CV	Nombre de valeurs considérées (n)
	Matrice	Eau usée traitée	Eau usée traitée	Eau de surface	Eau de surface	Eau de surface	Eau de surface	Eau usée traitée	L/jour	L/jour	%	
	Conditions	Sans biofouling	Avec biofouling	Sans biofouling	Avec biofouling	Face mate de la membrane à l'extérieur	Face brillante de la membrane à l'extérieur	Standard				
PESTICIDES	Atrazine	0,22	0,19	0,24	0,12	0,18	0,14	0,14	0,25	0,09	37	16
	DEA	ND	ND	curvi	curvi	curvi	curvi	ND	0,16	0,03	22	4
	DEDIA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	NA	0
	DIA	ND	ND	curvi	curvi	curvi	curvi	ND	NA	NA	NA	0
	Diuron	0,14	0,18	0,15	0,16	0,14	0,15	0,13	0,21	0,07	33	16
	Hydroxyatrazine	0,15	0,12	curvi	0,11	NA	0,13	ND	0,17	0,07	39	13
	Métolachlor	ND	ND	0,12	0,09	0,10	0,10	NA	0,28	0,16	58	13
COMPOSES PHARMACEUTIQUES	Bézafrate	0,24	0,20	0,16	0,10	0,11	0,12	0,12	0,18	0,07	37	17
	Carbamazépine	0,28	0,20	0,19	0,16	0,18	0,22	0,14	0,25	0,09	34	17
	Diclofénac	0,30	0,24	0,22	0,15	0,14	0,15	0,11	0,24	0,08	33	17
	Sulfaméthoxazole	curvi	curvi	curvi	0,17	curvi	curvi	0,16	0,18	0,02	10	4
HORMONES STEROIDIENNES	Ethinylestradiol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,26	0,08	31	8
	Levonorgestrel	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,40	0,17	43	8
	Mestranol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	NA	0
	Norethindrone	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,38	0,10	27	8
	17alpha-Estradiol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,29	0,11	37	7
	17beta-Estradiol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,36	0,10	29	8
	Œstriol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,20	0,09	44	3
	Œstrone	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,22	0,07	30	6

Taux d'échantil- lonnage L/jour	Type de calibration	<i>In-situ</i> Site A	<i>In-situ</i> Site A	<i>In-situ</i> Site B	<i>In-situ</i> Site B	<i>In-situ</i> Site B	<i>In-situ</i> Site B	<i>In-situ</i> Site B	MOYEN- NE	ECART- TYPE	CV	Nombre de valeurs considérées (n)
	Matrice	Eau usée traitée	Eau usée traitée	Eau de surface	Eau de surface	Eau de surface	Eau de surface	Eau usée traitée	L/jour	L/jour	%	
	Conditions	Sans biofouling	Avec biofouling	Sans biofouling	Avec biofouling	Face mate de la membrane à l'extérieur	Face brillante de la membrane à l'extérieur	Standard				
	Progestérone	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,25	0,12	47	5
	Testostérone	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,36	0,09	26	6
PERFL UORE s	PFOA	0,35	0,22	0,11	0,13	0,20	0,30	0,30	0,26	0,11	42	16
	PFOS	0,33	0,32	0,12	0,16	0,15	0,19	NA	0,23	0,08	33	14

4.3 Comparaison de différentes méthodes pour obtenir les taux d'échantillonnage

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour déterminer des taux d'échantillonnage :

- 1- Réaliser une régression linéaire en forçant le passage par l'origine.
- 2- Réaliser une régression linéaire en ne forçant pas le passage par l'origine.
- 3- Réaliser une régression non-linéaire avec la loi du premier ordre complète (équation 2).

En outre, lorsque la courbe d'accumulation est légèrement curvilinéaire, le choix peut être fait d'exclure par exemple le dernier point pour réaliser la régression linéaire (stratégie adoptée pour ces travaux), ou bien de faire la régression sur l'ensemble de la courbe.

Toutes ces approches conduisent logiquement à des valeurs de taux d'échantillonnage différentes. De manière à évaluer la variabilité introduite par le choix de stratégie, elles ont toutes été appliquées à une courbe d'accumulation classiquement observée lors de calibrations. Pour se placer dans un scénario engendrant potentiellement une variabilité maximale entre les différentes méthodes, une courbe d'accumulation atteignant l'équilibre avant la fin de l'exposition a été sélectionnée (Figure 55).

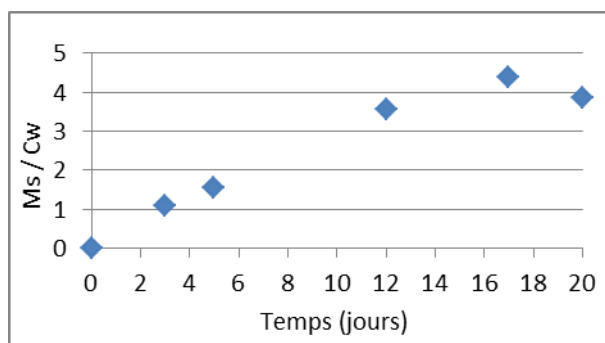


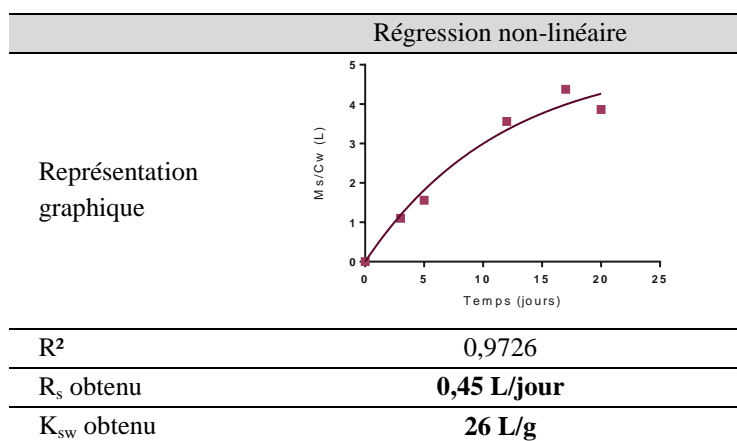
Figure 55 - Accumulation du diclofénac dans des POCIS exposés dans de l'eau filtrée sur sable dopée à 1 µg/L

Pour la simulation avec la loi du premier ordre, le logiciel GraphPad (GraphPad Prism v6, Inc. USA) a été utilisé.

Tableau 55 - Différents types de régressions linéaires appliquées à la courbe d'accumulation du diclofénac (Figure 55)

Représentation graphique	Régression linéaire sur 17 jours		Régression linéaire sur 20 jours	
	Zéro forcé	-	Zéro forcé	-
R ²	0,9794	0,9866	0,8911	0,9170
R _s obtenu	0,27 L/jour	0,26 L/jour	0,24 L/jour	0,21 L/jour

Tableau 56 - Régression non-linéaire appliquée à la courbe d'accumulation du diclofénac (Figure 55)



Les taux d'échantillonnage obtenus avec les différentes approches sont compris entre 0,21 L/jour et 0,45 L/jour. Il y a donc environ un facteur 2 entre les valeurs fournies par les différentes méthodes d'estimation des R_s .

Logiquement, ce sont les régressions linéaires réalisées sur les 20 jours d'exposition qui conduisent aux valeurs les plus faibles. En effet, comme la courbe tend à s'incurver en fin d'exposition, les derniers points abaissent la droite de régression, ce qui fournit un coefficient directeur i.e. un taux d'échantillonnage plus faible.

L'approche retenue dans le cadre de ces travaux fournit une valeur de taux d'échantillonnage intermédiaire (0,27 L/jour). Cette approche a été systématiquement appliquée, afin de ne pas introduire de biais lié à la méthode d'estimation des R_s .

Différentes méthodes sont employées dans la littérature pour calibrer les POCIS et ensuite pour déduire un taux d'échantillonnage. Au regard de ces différences, à la fois dans les conditions expérimentales et dans l'interprétation des résultats, l'adéquation entre les taux d'échantillonnage obtenus dans le cadre de cette étude et ceux publiés peut être considérée comme très satisfaisante.

Pour compléter cette réflexion, il est légitime de se demander si l'utilisation d'une même approche (soit régression linéaire soit non linéaire), à la fois pour obtenir les R_s et ensuite pour déduire des concentrations dans l'eau suite à un déploiement de POCIS, permet d'atténuer ce facteur 2 observé entre les R_s déterminés avec les deux types de stratégies. Afin d'étudier cela plus en détails, un cas concret, hypothétique, a été choisi : un POCIS exposé 15 jours et ayant accumulé 100 ng d'un composé quelconque. Le calcul de concentrations dans l'eau a été mené avec les deux taux d'échantillonnage déterminés précédemment, soit par régression linéaire (0,27 L/jour) soit par régression non-linéaire (0,45 L/jour), et est explicité dans le tableau 57.

Tableau 57 – Estimation de concentrations dans l'eau avec deux approches différentes

	Quantité accumulée dans le POCIS (ng)	Durée d'exposition (jours)	Paramètres utilisés pour le calcul	Formule	Concentration dans l'eau calculée (ng/L)
Régression linéaire	100	15	$R_s = 0,27 \text{ L/jour}$	$C_w = \frac{M_s}{R_s * t}$	24,7 ng/L
Régression non-linéaire			$R_s = 0,45 \text{ L/jour}$ $K_{sw} = 26 \text{ L/g}$	$C_w = \frac{M_s}{K_{sw} * 0,2 (1 - e^{-\frac{R_s t}{0,2 K_{sw}}})}$	26,5 ng/L

Par conséquent, lorsqu'une approche cohérente est adoptée depuis la méthode de détermination du R_s jusqu'à son utilisation pour calculer une concentration dans l'eau, les résultats finaux sont comparables.

5. Positionnement du prélèvement passif par POCIS par rapport aux prélèvements ponctuels ou moyennés

5.1 Limite de quantification et effet matriciel

Le taux d'échantillonnage peut être assimilé au volume d'eau concentré par un POCIS par unité de temps. En prenant une valeur moyenne de 0,25 L/jour, après 15 jours d'exposition, ce sont l'équivalent de 3,75 litres d'eau qui sont concentrés sur la phase réceptrice d'un POCIS.

A titre de comparaison, lors d'une SPE d'un échantillon d'eau, ce sont généralement des volumes compris entre 100 mL et 1 litre qui sont extraits, en fonction du niveau de concentration supposé dans l'échantillon.

C'est donc l'équivalent d'un volume d'eau au moins 4 fois supérieur qui est extrait par le POCIS, menant par suite à une limite de quantification significativement abaissée en faveur du prélèvement passif.

Néanmoins, cette estimation directe ne tient pas compte de l'effet de matrice qui peut potentiellement être différent entre un extrait d'eau et un extrait de POCIS, générant une sensibilité et donc une LQ différente.

Pour discuter ce point, deux étalons marqués ont été sélectionnés, l'atrazine d5 et la carbamazépine d10. Comme ces composés sont ajoutés en même quantité dans la gamme d'étalonnage et les échantillons, les réponses, exprimées en aires, peuvent être utilisées pour avoir une indication de l'effet de matrice pour les deux types d'échantillons (eau et POCIS) par rapport à la gamme. Les étalons internes sont ajoutés dans les échantillons d'eau avant percolation et dans les extraits de POCIS après élution et aliquotage. Entre les deux types d'échantillons il peut donc exister un biais lié à l'étape de percolation. Or il a été montré que le rendement de cette étape est très proche de 100 % pour l'atrazine et la carbamazépine (Figure 27, page 141). Il en est donc de même pour leurs analogues deutérés respectifs.

Tous les échantillons (gamme, extrait d'échantillon d'eau, extrait de POCIS) subissent ensuite les mêmes étapes : évaporation et reprise. Un biais semblable affecte donc les trois types d'échantillons. Par conséquent, la comparaison directe des aires obtenues pour l'atrazine d5 et la carbamazépine d10 permet d'estimer l'extinction de signal due à la matrice.

Tableau 58 - Evaluation de l'effet matriciel dans des échantillons d'eau de l'effluent du site B, ainsi que dans des échantillons de POCIS exposés au même endroit pendant 15 jours et dilués au 1/2 et 1/10

Aires	Point de gamme (niveau 4)	Echantillon d'eau effluent STEP B	Extinction par rapport à la gamme	POCIS exposé 15 jours dilué 1/2	Extinction par rapport à la gamme	POCIS exposé 15 jours dilué 1/10	Extinction par rapport à la gamme
Atrazine d5	134,2.10 ⁶	10,9.10 ⁶	- 92 %	21,7.10 ⁶	- 84 %	45,9.10 ⁶	- 66 %
Carbama-zépine d10	123,8.10 ⁶	11,5.10 ⁶	- 91 %	23,9.10 ⁶	- 81 %	59,1.10 ⁶	- 52 %

Il apparaît que les échantillons d'eau de ce site sont affectés d'un important effet matriciel, générant une forte extinction de signal (supérieure à un facteur 10). Quant aux extraits de POCIS, l'extinction de signal diminue de manière significative avec la dilution. En effet, cette stratégie permet de diluer les interférents et ainsi d'optimiser l'ionisation des analytes. Suivant la nature de l'échantillon et le niveau de concentration, il est possible de trouver un compromis entre effet de matrice (i.e. dilution) et sensibilité, pour obtenir un niveau de dilution optimal.

Des étapes de rinçage de la phase HLB peuvent également être ajoutées. Cette stratégie n'a pas été testée car elle ne s'est pas avérée nécessaire.

Dans le cas présent, 500 mL d'eau ont été extraits et les POCIS ont été exposés 14 jours, ce qui correspond à 3,5 litres d'eau concentrés sur la phase réceptrice du POCIS. Il est donc possible de réaliser une dilution au 1/2 des extraits de POCIS tout en conservant une meilleure sensibilité qu'avec les prélèvements moyennés. En effet, la dilution permet de limiter légèrement l'extinction de signal, et la prise d'essai équivalente (1,75 litre) reste supérieure à la prise d'essai pour l'extraction classique (500 mL).

Même si certains de ces résultats (sur l'effet de matrice notamment) sont à nuancer car très dépendants de l'appareil utilisé, ils permettent de mettre en évidence une sensibilité plus importante avec un prélèvement passif qu'un prélèvement classique.

Une démarche semblable a été menée par Lissalde et al. (2011). Des POCIS ont été exposés durant 14 jours dans une rivière du Sud-Ouest de la France. Simultanément de l'eau a été échantillonnée grâce à un préleveur automatique durant toute la durée de l'exposition des POCIS. Un effet matriciel relativement important (50 % d'extinction de signal) a été observé pour la DEA d6 pour les extraits de POCIS dilués au 1/2. Une dilution au 1/10^{ème} des extraits de POCIS a permis de minimiser ces effets de matrice, tout en conservant une sensibilité supérieure à celle obtenue avec les prélèvements moyennés. En effet, sept pesticides ont été quantifiés par prélèvement d'eau moyenné, alors que quatre pesticides supplémentaires, soit onze au total, ont été quantifiés par POCIS, et ce avec une dilution des extraits de POCIS au 1/10^{ème}.

5.2 Essais inter-laboratoires NORMAN

Lors de l'EIL organisé par l'association NORMAN, différents composés ont été dosés à la fois par prélèvement passif et par prélèvement moyenné sur l'ensemble de la période d'exposition. Au moment du rendu des résultats de l'EIL, seuls des taux d'échantillonnage pour la carbamazépine, le diclofénac et l'œstrone avaient été obtenus par calibration dans le cadre de ces travaux de thèse. Les autres taux d'échantillonnage utilisés pour convertir les quantités accumulées dans les POCIS en concentrations dans l'eau sont des données de la littérature (Togola et Budzinski 2007; Li et al. 2010a; Lissalde et al. 2011).

Les taux d'échantillonnage moyens déterminés précédemment (Tableau 54) ont été utilisés dans un second temps, en dehors du cadre de cet EIL, pour estimer des concentrations dans l'eau et les confronter à celles mesurées par les laboratoires centraux (Tableau 59).

Tableau 59 - Comparaison entre les concentrations estimées par échantillonnage passif et mesurées par les laboratoires centraux lors de l'EIL NORMAN (R_s moyen)

Composé	Concentration dans les POCIS ng/g	R_s moyen L/jour	Durée d'exposition jours	C_w estimée par POCIS ng/L	C_w mesurée ng/L	Ecart relatif
Carbamazépine	8283	0,25	14	476	778	39 %
Diclofénac	4212	0,24		252	752	66 %
Atrazine	357	0,25		20	21	2 %
Métolachlore	38	0,28		2	< LQ	NA
Diuron	3615	0,21		247	196	26 %
PFOA	307	0,26		17	32	47 %
PFOS	50	0,23		3	7	56 %

L'adéquation entre les concentrations estimées par POCIS et par prélèvement moyenné est très satisfaisante pour l'atrazine et le diuron (moins de 30 % d'écart relatif entre les deux valeurs). Elle reste satisfaisante pour la carbamazépine (39 % d'écart relatif), pour le PFOA (47 % d'écart relatif) et pour le PFOS étant donnée la faiblesse des concentrations (56 % d'écart relatif). Enfin, concernant le diclofénac, un écart relatif plus important a été constaté (66 %).

Les concentrations sont quasi-systématiquement sous-estimées en utilisant l'approche par prélèvement passif. Cela signifie que le taux d'échantillonnage employé pour le calcul est plus élevé que celui intervenu lors du déploiement. Il convient de remarquer que les taux d'échantillonnage déterminés *in-situ* (Tableau 54) sont généralement un peu plus faibles que ceux déterminés en laboratoire ou sur le pilote. Ceci pourrait s'expliquer par la présence de matière organique qui est susceptible d'entrer en compétition avec les analytes vis-à-vis de l'accumulation (Bailly et al. 2012). En faisant le même exercice d'estimation des concentrations dans l'eau, mais en utilisant cette fois la moyenne des taux d'échantillonnage déterminés *in-situ*, on parvient à une adéquation légèrement améliorée pour les composés pharmaceutiques et les PFCs mais moins bonne pour les pesticides (Tableau 60).

Tableau 60 - Comparaison entre les concentrations estimées par échantillonnage passif et mesurées par les laboratoires centraux lors de l'EIL NORMAN (Rs *in-situ*)

Composé	Concentration dans les POCIS ng/g	R_s <i>in-situ</i> moyen L/jour	Durée d'exposition jours	C _w estimée par POCIS ng/L	C _w mesurée ng/L	Ecart relatif
Carbamazépine	8283	0,20	14	595	778	24 %
Diclofénac	4212	0,20		302	752	60 %
Atrazine	357	0,18		28	21	36 %
Métolachlore	38	0,17		3	< LQ	NA
Diuron	3615	0,17		305	196	56 %
PFOA	307	0,24		18	32	43 %
PFOS	50	0,22		3	7	54 %

L'utilisation de taux d'échantillonnage « moyens » englobant toutes les configurations et matrices testées s'avère donc pertinente. L'emploi de taux d'échantillonnage plus « ciblés » ne permet pas, dans le cadre précis de cet essai, d'améliorer globalement la justesse des concentrations estimées.

Enfin, il faut noter la possibilité de quantifier certains composés à l'état de traces, comme le métolachlore ou le PFOS, grâce aux POCIS, et par suite d'estimer une concentration dans l'eau pour ce type de composés. En revanche, le laboratoire central n'a pas été en mesure de fournir une concentration pour le métolachlore car leur méthode analytique n'était pas suffisamment sensible.

Conclusions et perspectives

Les principaux objectifs de ces travaux de thèse étaient d'une part d'optimiser le design de l'outil de prélèvement passif « POCIS », d'autre part de l'évaluer dans des conditions expérimentales très variées afin de documenter l'impact de différents paramètres et enfin d'aboutir à un positionnement du POCIS par rapport aux techniques de prélèvement traditionnelles.

Dans ce contexte, des familles de composés diversifiées ont été sélectionnées : pesticides, composés pharmaceutiques, hormones et composés perfluorés. Au sein de chaque famille, plusieurs composés traceurs, présents dans l'environnement et comportant des propriétés physico-chimiques variées, ont été choisis. En outre, des molécules de statuts réglementaires différents ont été considérées : des composés réglementés via la DCE ou la convention de Stockholm (diuron, atrazine, PFOS), des composés en cours d'inclusion dans ces mêmes réglementations (carbamazépine, diclofénac, éthinylœstradiol) et enfin des composés qualifiés d'émergents mais dont la présence dans l'environnement et parfois le potentiel toxique est avéré (hormones stéroïdiennes, autres composés pharmaceutiques...).

Des méthodes analytiques ont été développées et validées pour les 23 composés sur les deux sites de travail (Bordeaux et Saint-Maurice). Une logique « multi-résidus » a été adoptée, ce qui a conduit à l'obtention d'une méthode analytique en mode d'ionisation positif pour les pesticides, les hormones et les composés pharmaceutiques et une méthode en mode d'ionisation négatif pour les composés perfluorés. Des méthodes d'extraction pour les eaux, pour la phase des POCIS ainsi que pour leurs membranes ont également été développées et validées.

Des essais en laboratoire portant sur l'optimisation du design du POCIS ont été menés, tant sur la membrane que sur la phase réceptrice. Il semble que la membrane en polycarbonate ne fournit pas d'amélioration par rapport au design classique (membrane en PES). L'utilisation de la membrane en Nylon permet d'échantillonner de manière linéaire des composés apolaires (mestranol) et sortant du spectre de l'outil classique. De nombreux adsorbants ont été testés, avec la double optique de la limitation des coûts et de la gamme de composés échantillonnés. Au terme d'essais de désorption et de percolation, le potentiel de la phase SDB envers les molécules relativement polaires comme la DEDIA ou la DIA a semblé intéressant. Le mélange HLB et SDB (50/50 w/w) a fourni des facteurs de concentration pour les composés polaires plus importants que la configuration traditionnelle, ce qui permet d'augmenter la sensibilité de l'outil. Néanmoins, ce mélange de phases ne permet pas de linéariser la cinétique d'accumulation de ces mêmes molécules, ce qui exclut toute application semi-quantitative. La diminution de la quantité de phase réceptrice (50 mg au lieu de 200 mg) conduit logiquement à une diminution de la sensibilité de l'outil. En effet, pour rester dans le domaine linéaire, cet outil ne doit pas être exposé au-delà de quelques jours car l'équilibre est atteint plus rapidement qu'avec l'outil comportant 200 mg de phase. L'orientation des membranes en PES ne joue pas de rôle sur la cinétique d'accumulation malgré les différences structurales mises en évidence par les observations au MEB. Enfin, l'ajout de cuivre dans la phase réceptrice du POCIS ne semble pas présenter de valeur ajoutée. La configuration classique semble donc adéquate dans un cas « générique », les optimisations de design précédemment présentées peuvent être appropriées dans des cas très précis. Les différentes perspectives d'application sont présentées dans le tableau 61.

Des calibrations de POCIS ont été effectuées sur différents systèmes de complexité croissante : au laboratoire, sur pilote et sur site. Des études de modélisation ont conduit à la validation des systèmes expérimentaux (laboratoire et pilote) en termes d'homogénéité et ont fourni une estimation de la vitesse linéaire à la surface des différents POCIS, indispensable pour positionner ces systèmes par rapport au milieu naturel. Ces calibrations ont permis de tester l'influence de différents paramètres environnementaux, qui, suite à l'étude bibliographique, étaient susceptibles d'avoir un impact sur

l'accumulation des composés dans le POCIS. L'effet des paramètres suivants a été évalué : débit, température, matrice, présence de biofilm, dispositif de déploiement. Il s'est avéré qu'aucun de ces paramètres n'a d'impact majeur sur le comportement du POCIS. Par conséquent, des taux d'échantillonnage moyens ont pu être estimés, avec leur niveau de confiance associé. Malgré la diversité des conditions expérimentales, les taux d'échantillonnage se sont révélés robustes, avec un coefficient de variation inférieur à 40 % pour la plupart des composés ciblés, excepté le PFOA (42%), l'œstriol (44 %), la progestérone (47%) et le métolachlore (58%). Ce résultat est particulièrement satisfaisant lorsqu'on le compare aux incertitudes observées dans le cas de techniques d'échantillonnage et d'analyse conventionnelles, qui sont classiquement autour de 20-30 % pour chacune de ces deux étapes.

L'ensemble de ces calibrations a également conduit à la répartition des analytes dans trois groupes, suivant leur cinétique d'accumulation caractéristique. Ces groupes correspondent chacun à un domaine de polarité, représenté dans le tableau 61 par le log K_{ow} . Les composés les plus polaires s'accumulent de manière curvilinéaire et l'équilibre est atteint très rapidement (quelques jours). Les composés de polarité intermédiaire s'accumulent généralement de manière linéaire sur des durées typiques de 15 jours. Enfin, le mestranol, qui est le composé le plus apolaire, s'accumule après quelques jours de retard (*lag-effect*). Ces comportements sont conformes aux observations de la littérature et peuvent être facilement justifiés par la polarité des composés en question.

En termes d'améliorations de design, pour les composés les plus polaires, il est possible d'employer un mélange de phases (HLB-SDB) qui fournit un facteur de concentration plus important. Différentes stratégies alternatives, comme la diminution de la surface d'échange, ou encore l'ajout d'un gel diffusif, ont été explorées dans les travaux de thèse de Fauvelle (2012). Le potentiel de la membrane en Nylon pour étendre le domaine de composés échantillonnés de manière linéaire, vers les molécules plus hydrophobes, montré par les travaux de Abou Mrad (2011), Belles (2012) et Soulier (2012), a été confirmé par ces résultats.

Tableau 61 - Répartition des molécules ciblées dans trois groupes

	Groupe 1 Cinétique d'accumulation curvilinéaire	Groupe 2 Cinétique d'accumulation linéaire	Groupe 3 Cinétique d'accumulation présentant un <i>lag-effect</i>
Composés	DEDIA, DIA, sulfaméthoxazole	DEA, hydroxyatrazine, atrazine, diuron, métolachlore, bézafibrate, carbamazépine, diclofénac, œstrone, œstriol, 17 α -œstradiol, 17 β -œstradiol, ethinylœstradiol, lévonorgestrel, noréthindrone, progestérone, testostérone, PFOA, PFOS	mestranol
Gamme de log K_{ow}	$0 < \log K_{ow} < 1,4$	$1,4 < \log K_{ow} < 4,2$	4,7
Type d'application	Présence / absence Screening	Semi-quantitatif Intégratif	Présence / absence Screening
Limitations	Faible facteur de concentration i.e. LQ élevée	Maîtrise de la variabilité du taux d'échantillonnage	Faible réactivité i.e. durée d'exposition importante
Améliorations potentielles	Utilisation d'un mélange de phases type HLB-SDB Diminution de la surface d'échange ou ajout d'un gel diffusif (Fauvelle 2012)		Utilisation de membranes en Nylon

Enfin, l'échantillonnage passif a permis de calculer des concentrations dans l'eau et de confronter ces concentrations déterminées par POCIS aux concentrations mesurées. Dans le cadre du déploiement sur le site A (effluent de STEP), une première exposition a fourni des taux d'échantillonnage *in-situ*, appliqués lors d'un second déploiement sur le même site pour calculer des concentrations dans l'eau. Cette stratégie de calibration *in-situ*, même si elle requiert une logistique importante, s'est avérée très efficace puisqu'elle a permis d'estimer les concentrations dans l'eau à 20 % près pour la plupart des analytes.

Une démarche semblable a été menée sur le site de l'EIL NORMAN, mais en utilisant cette fois des taux d'échantillonnage moyens, déterminés à la fois en laboratoire, sur pilote et *in-situ*. Une bonne adéquation entre les concentrations estimées par prélèvement passif et mesurées par les laboratoires de référence, a été constatée (< 50 %) pour l'essentiel des composés, même si cette comparaison n'a pu être effectuée que pour six molécules.

La participation à cet EIL a permis à la fois de valider la méthodologie d'extraction, d'analyse et de calcul de concentrations à partir de POCIS, et d'un point de vue logistique, de valider l'applicabilité de l'outil à grande échelle avec des partenaires multiples. La mise en œuvre de cet outil sur des sites éloignés du laboratoire (site B et République Tchèque) a pu être éprouvée, avec les contraintes de fragilité des membranes et celles liées aux envois par transporteur. Des essais ont confirmé la stabilité des POCIS, qu'ils soient stockés à 4°C ou à -20°C après exposition. Le gain en volume de stockage par rapport à des échantillons d'eau leur confère également un net avantage pratique. En outre, les composés, une fois adsorbés sur la phase HLB, sont moins susceptibles de se dégrader (Carlson et al. 2013) qu'au sein d'un échantillon d'eau dont l'évolution sur plusieurs mois est incertaine, ce qui ajoute une importante souplesse dans le traitement des échantillonneurs par rapport à des prélèvements d'eau classiques.

Enfin, le caractère intégratif des POCIS a été démontré, à la fois lors d'essais dans des conditions contrôlées simulant des pics de pollution et lors d'expositions sur le terrain au cours d'événements ponctuels fortuits. Cet aspect intégratif a été établi sur des durées d'exposition inférieures à 12 jours et pour une gamme de composés dont le log K_{ow} est compris entre 1,5 et 4. **Il ressort donc que le POCIS est un outil approprié pour suivre des concentrations variables et fournir une image moyenne de la contamination chimique du milieu.**

En termes de perspectives, il serait pertinent d'explorer certains aspects complémentaires à ce travail.

- L'effet de l'orientation des POCIS sur l'accumulation des composés pourrait être documenté. En effet, comme il a été précédemment montré, lorsque le POCIS est sur un support de type holder (i.e. quasi-vertical), toute la phase HLB est « tassée » vers le bas du POCIS, réduisant de manière importante la surface d'échange efficace avec le milieu. Or, même en réalisant les calibrations dans cette configuration, il n'est pas possible d'être sûr de l'orientation des POCIS une fois la cage exposée sur site. De fait, en fonction du système de déploiement utilisé, et des différents mouvements de la masse d'eau, les échantillonneurs peuvent être amenés à adopter toutes les orientations. Néanmoins, lors de l'exposition avec et sans cage, les POCIS étaient disposés à la fois horizontalement (configuration sans cage) et quasi-verticalement (configuration avec cage). Les deux configurations ont fourni des taux

d'échantillonnage extrêmement proches, il semble donc probable que l'effet de l'orientation des POCIS soit relativement limité. Quoi qu'il en soit, ce point mériterait une confirmation rigoureuse.

- Il conviendrait d'approfondir la stratégie de calibration *in-situ*. De nombreux articles traitent de l'influence d'un paramètre environnemental, sans considérer son caractère représentatif ou non de l'environnement. Réaliser des calibrations *in-situ* dans des conditions expérimentales représentatives pourrait donc aboutir à la caractérisation du domaine de variation des R_s avec les variables environnementales les plus pertinentes, dans des domaines réalistes. Cette caractérisation a été initiée lors de ces travaux de thèse mais il est nécessaire de la poursuivre dans des milieux plus variés afin d'améliorer la fiabilité des données générées dans le but d'aboutir à une approche semi-quantitative.
- Des études fondamentales sont indispensables avant de pouvoir envisager une approche quantitative, comme il a été souligné lors du dernier congrès spécialisé (International Passive Sampling Workshop and symposium, 27-29 juin 2013, Bordeaux, France). Parmi les obstacles qu'il reste à lever figurent notamment :
 - La compréhension des mécanismes impliquant la membrane en PES. Dans le cadre de cette étude, une accumulation importante de diuron et de PFOS dans les membranes a été observée, sans impact visible sur la linéarité de l'accumulation. Ces résultats sont en accord avec des observations de la littérature (Vermeirssen et al. 2012). Des études, par exemple de modélisation moléculaire, pourraient permettre de mieux comprendre l'interaction entre ces composés et le polymère de la membrane.
 - De plus, la caractérisation plus fine de la membrane en PES pourrait participer à l'amélioration de la compréhension de ces phénomènes. Au delà des spécifications fournies par les fabricants, qui sont généralement limitées au diamètre de pore et à l'épaisseur de la membrane, il serait pertinent de mener une caractérisation plus complète par des techniques par exemple de mesure d'angle de contact (hydrophilie), de charge de surface, ou encore de densité de pores.
 - La réalisation d'isothermes d'adsorption permettrait de mieux caractériser les interactions entre la phase Oasis HLB et différents composés organiques. Les articles publiés sur ce point sont encore trop rares, mais permettent déjà d'affirmer que les interactions entre la phase HLB et les molécules organiques sont multiples et complexes. L'exemple de la vitesse de dissipation d'un PRC variant suivant le solvant de préparation utilisé et donc la nature des sites d'adsorption activés (Belles, 2012) est éloquent.
- L'utilisation de la capacité d'enrichissement des POCIS pour les coupler à d'autres techniques de caractérisation de mélanges complexes apparaît comme très prometteuse. Les travaux de recherche pluridisciplinaires initiés dans ce domaine montrent que le couplage du prélèvement passif par POCIS avec des stratégies bio-analytiques, soit directement sur l'extrait de POCIS, soit après fractionnement dans le cadre par exemple d'une démarche de type EDA (*Effect-Directed Analysis*) est extrêmement pertinent. Cette approche repose sur la combinaison de fractionnements couplés à des bioessais, permettant de mettre en évidence de potentiels effets

toxiques, et des méthodologies analytiques de screening par des techniques de masse à haute résolution pour caractériser les molécules responsables de ces effets.

Références bibliographiques

- Abou Mrad, N. 2011. « Développements méthodologiques pour l'échantillonnage et l'analyse des hydrocarbures dans les systèmes aquatiques ». Thèse de l'université Bordeaux 1 - numéro d'ordre 4423.
- Académie nationale de Pharmacie. 2008. « Médicaments et Environnement ». http://www.acadpharm.org/dos_public/1_Rapport_Med_Env_version_JMH_def_JPC.pdf (consulté le 5 septembre 2013).
- Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 2012. « Analyse des ventes de médicaments en France en 2011 ». http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0e689f733291d5ddbb09f0cccf93e438.pdf (consulté le 15 juillet 2013).
- Aguilar-Martínez, R., M. M. Gómez-Gómez, R. Greenwood, G.A. Mills, B. Vrana, et M. A. Palacios-Corvillo. 2009. « Application of Chemcatcher passive sampler for monitoring levels of mercury in contaminated river water ». *Talanta* 77 (4): 1483-1489.
- Ahrens, L. 2011. « Polyfluoroalkyl compounds in the aquatic environment: a review of their occurrence and fate ». *Journal of Environmental Monitoring* 13 (1): 20-31.
- Allan, I. J., B. Vrana, R. Greenwood, G. A. Mills, B. Roig, et C. Gonzalez. 2006. « A "toolbox" for biological and chemical monitoring requirements for the European Union's Water Framework Directive ». *Talanta* 69 (2): 302-322.
- Alvarez, D. A. 1999. « Development of an integrative sampling device for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments ». Thèse de l'université de Missouri-Columbia.
- Alvarez, D. A., J. D. Petty, J. N. Huckins, T. L. Jones-Lepp, D. T. Getting, J. P. Goddard, et S. E. Manahan. 2004. « Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (7): 1640-1648.
- Alvarez, D.A., P.E. Stackelberg, J.D. Petty, J.N. Huckins, E.T. Furlong, S.D. Zaugg, et M.T. Meyer. 2005. « Comparison of a novel passive sampler to standard water-column sampling for organic contaminants associated with wastewater effluents entering a New Jersey stream ». *Chemosphere* 61 (5): 610-622.
- Alvarez, D. A., J. N. Huckins, J. D. Petty, T. L. Jones-Lepp, F. Stuer-Lauridsen, D. T. Getting, J.P. Goddard, et A. Gravell. 2007. « Tool for monitoring hydrophilic contaminants in water: polar organic chemical integrative sampler (POCIS) ». In *Passive sampling techniques in environmental monitoring*. Vol. 48. Comprehensive Analytical Chemistry. D. Barcelo.
- ANSES. 2011. « Rapport sur la campagne nationale d'occurrence des composés alkyls perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine. Ressources en eaux brutes et eaux traitées. » <http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/rap0211c.pdf>. (consulté le 6 septembre 2013).
- ANSES. 2013. « Evaluation des risques liés aux résidus de pesticides dans l'eau de distribution ». <http://www.anses.fr/fr/documents/ORP-Ra-PesticidesEau.pdf>. (consulté le 9 septembre 2013).
- Aquaref. 2009. « Les substances émergentes dans l'environnement - note de synthèse sur l'état de l'art concernant les produits pharmaceutiques, les cosmétiques et les produits d'hygiène corporelle ».
- Arditsoglou, A., D. Voutsas. 2008. « Passive sampling of selected endocrine disrupting compounds using polar organic chemical integrative samplers ». *Environmental Pollution* 156 (2): 316-324.
- Arrêté du 25 janvier 2010. http://www.legifrance.gouv.fr/jopdf/common/JO_pdf.jsp?numJO=0&dateJO=20100224&numTexte=8&pageDebut=03406&pageFin=03429 (consulté le 5 août 2013).
- Aubertot, J.N., J.M. Barbier, A. Carpentier, J.J. Gril, L. Guichard, P. Lucas, S. Savary, I. Savini, et M. Voltz. 2005. « Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux ». INRA - Cemagref. http://genet.univ-tours.fr/gen002300/DONNEES/biotechs_vertes/Rapport%20Pesticides/Rapport%20d%27expertise%20Pesticides.pdf (consulté le 15 juillet 2013).
- Aulagnier, F., L. Poissant, D. Brunet, C. Beauvais, M. Pilote, C. Deblois, et N. Dassylva. 2008. « Pesticides measured in air and precipitation in the Yamaska Basin (Québec): Occurrence and concentrations in 2004 ». *Science of The Total Environment* 394 (2-3): 338-348.
- Assoumani, A., S. Lissalde, C. Margoum, N. Mazzella, et M. Coquery. 2013. « In situ application of stir bar sorptive extraction as a passive sampling technique for the monitoring of agricultural pesticides in surface waters ». *Science of The Total Environment* 463-464: 829-835.

- Azzouz, A., et E. Ballesteros. 2013. « Influence of seasonal climate differences on the pharmaceutical, hormone and personal care product removal efficiency of a drinking water treatment plant ». *Chemosphere*, in press
- Bailly, E., Y. Levi, et S. Karolak. 2013. « Calibration and field evaluation of polar organic chemical integrative sampler (POCIS) for monitoring pharmaceuticals in hospital wastewater ». *Environmental Pollution* 174: 100-105.
- Banks, K. E., P. K. Turner, S. H. Wood, et C. Matthews. 2005. « Increased toxicity to *Ceriodaphnia dubia* in mixtures of atrazine and diazinon at environmentally realistic concentrations ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60 (1): 28-36.
- Bäuerlein, P. S., T. L. ter Laak, R.C.H.M. Hofman-Caris, P. de Voogt, et S.T.J. Droge. 2012. « Removal of charged micropollutants from water by ion-exchange polymers – Effects of competing electrolytes ». *Water Research* 46 (16): 5009-5018.
- Belles, A., P. Pardon, et H. Budzinski. 2013. « Development of an adapted version of Polar Organic Chemical Integrative Samplers (POCIS-like) ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, in press.
- Belles, A. 2012. « Développements et applications environnementales des échantillonneurs passifs pour la surveillance des écosystèmes aquatiques ». Thèse de l'université Bordeaux 1 - numéro d'ordre 4723.
- Berger, U. 2012. « Perfluoroalkyl acids in blood serum from first time mothers from Uppsala, Sweden: temporal trends 1996-2010 and serial samples during pregnancy and nursing ». Conférence présentée à SETAC, Berlin, Allemagne.
- Besse, J-P., et J. Garric. 2009. « Progestagens for human use, exposure and hazard assessment for the aquatic environment ». *Environmental Pollution* 157 (12): 3485-3494.
- Booij, K., B. Vrana, et J.N. Huckins. 2007. « Theory, modelling and calibration of passive samplers used in water monitoring ». In *Passive sampling techniques in environmental monitoring*. Vol. 48. Comprehensive Analytical Chemistry. D. Barcelo.
- Boxall, A.B.A., C.J. Sinclair, K. Fenner, D. Kolpin, et S. J. Maund. 2004. « When Synthetic Chemicals Degrade in the Environment ». *Environmental Science & Technology* 38 (19): 368A-375A.
- Brouckaert, C.J., et C.A. Buckley. 1999. « The use of Computational Fluid Dynamics for improving the design and operation of water and wastewater treatment plants ». *Water Science and Technology* 40 (4-5): 81-89.
- Bruchet, A., L. Castillo, M. Esperanza, M-L. Janex-Habibi, G. Herry, A. Huyard, et J. Pasanau. 2006. « Présence et devenir des perturbateurs endocriniens dans les stations de traitement des eaux résiduelles urbaines ». Rapport ADEME.
- Bueno, M.J. Martínez, M.J. Gomez, S. Herrera, M.D. Hernando, A. Agüera, et A.R. Fernández-Alba. 2012. « Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: Two years pilot survey monitoring ». *Environmental Pollution* 164: 267-273.
- Capdeville, M-J. 2011. « Etudes des cycles biogéochimiques des contaminants organiques dits "émergents" dans les systèmes aquatiques ». Thèse de l'université Bordeaux 1 - numéro d'ordre 4303.
- Cargouët, M., D. Perdiz, A. Mouatassim-Souali, S. Tamié-Karolak, et Y. Levi. 2004. « Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France) ». *Science of The Total Environment* 324 (1-3): 55-66.
- Carlson, J. C., J. K. Challis, M. L. Hanson, et C. S. Wong. 2013. « Stability of pharmaceuticals and other polar organic compounds stored on polar organic chemical integrative samplers and solid-phase extraction cartridges ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 32 (2): 337-344.
- Centre d'Information sur l'Eau. 2013.
<http://www.cieau.com/tout-sur-l-eau/le-cycle-naturel-de-l-eau>. (consulté le 7 août 2013)
- Chang, H., Y. Wan, S. Wu, Z. Fan, et J. Hu. 2011. « Occurrence of androgens and progestogens in wastewater treatment plants and receiving river waters: Comparison to estrogens ». *Water Research* 45 (2): 732-740.
- Charlestra, L., D. L. Courtemanch, A. Amirbahman, et H. Patterson. 2008. « Semipermeable membrane device (SPMD) for monitoring PCDD and PCDF levels from a paper mill effluent in the Androscoggin River, Maine, USA ». *Chemosphere* 72 (8): 1171-1180.

- Charlestra, L., A. Amirbahman, D.L. Courtemanch, D.A. Alvarez, et H. Patterson. 2012. « Estimating pesticide sampling rates by the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) in the presence of natural organic matter and varying hydrodynamic conditions ». *Environmental Pollution* 169: 98-104.
- Chevreuil, M., M. Garmouma, M.J. Teil, et A. Chesterikoff. 1996. « Occurrence of organochlorines (PCBs, pesticides) and herbicides (triazines, phenylureas) in the atmosphere and in the fallout from urban and rural stations of the Paris area ». *Science of The Total Environment* 182 (1-3): 25-37.
- Circulaire du 29 janvier 2013.
http://circulaire.legifrance.gouv.fr/pdf/2013/02/cir_36466.pdf (consulté le 5 août 2013).
- Circulaire du 7 mai 2007.
http://www.installationsclassees.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/_Arrete_substances_Circulaire_7mai2007.pdf (consulté le 1^{er} août 2013).
- Commissariat Général au Développement Durable. 2013. « Contamination des cours d'eau par les pesticides en 2011 ». <http://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/> (consulté le 8 août 2013).
- Convention de Stockholm sur les Polluants Organiques Persistants (POPs).
<http://chm.pops.int/Convention/ConventionText/tabid/2232/Default.aspx>. (consulté le 8 juillet 2013).
- Coscollà, C., P. Colin, A. Yahyaoui, O. Petrique, V. Yusà, A. Mellouki, et A. Pastor. 2010. « Occurrence of currently used pesticides in ambient air of Centre Region (France) ». *Atmospheric Environment* 44 (32): 3915-3925.
- De la Cal, A., M. Kuster, M. Lopez de Alda, E. Eljarrat, et D. Barceló. 2008. « Evaluation of the aquatic passive sampler Chemcatcher for the monitoring of highly hydrophobic compounds in water ». *Talanta* 76 (2): 327-332.
- De Rossi, C., R. Bierl, et J. Riefstahl. 2003. « Organic pollutants in precipitation: monitoring of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in the region of Trier (Germany) ». *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C* 28 (8): 307-314.
- Décision 2002/657/CE.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:221:0008:0036:FR:PDF> (consulté le 7 juillet 2013).
- Définition : bio-indicateur - Dictionnaire de français Larousse.
<http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/bio-indicateur/9426>. (consulté le 20 août 2013).
- Définition : stéroïde - Dictionnaire de français Larousse.
<http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/st%C3%A9ro%C3%AFde/74691>. (consulté le 16 juillet 2013).
- Dévier, M-H., K. Le Menach, L. Viglino, L. Di Gioia, P. Lachassagne, et H. Budzinski. 2013. « Ultra-trace analysis of hormones, pharmaceutical substances, alkylphenols and phthalates in two French natural mineral waters ». *Science of The Total Environment* 443: 621-632.
- Díaz-Cruz, M.S., M.J. García-Galán, P. Guerra, A. Jelic, C. Postigo, E. Eljarrat, M. Farré, et al. 2009. « Analysis of selected emerging contaminants in sewage sludge ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 28 (11): 1263-1275.
- Diffusion - Introduction to materials science for engineers. University of Tennessee. 2013.
<http://web.utk.edu/~prack/mse201/Chapter%205%20Diffusion%20.pdf>. (consulté le 26 août 2013).
- Directive 2000/60/CE. 2013.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32000L0060:FR:HTML>. (consulté le 24 avril 2013).
- Directive 2001/83/CE.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2001:311:0067:0067:FR:PDF>. (consulté le 23 avril 2013).
- Directive 2008/105/CE.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:348:0084:01:FR:HTML>. (consulté le 24 avril 2013).
- Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:226:0001:0017:EN:PDF>. (consulté le 2 septembre 2013).

- Directive 2013/39/UE du Parlement Européen et du Conseil.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:226:0001:0017:FR:PDF>.
 (consulté le 28 août 2013).
- Directive 75/440/CEE.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31975L0440:FR:HTML>.
 (consulté le 23 avril 2013).
- Directive 76/464/CEE.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31976L0464:FR:HTML>.
 (consulté le 24 avril 2013).
- Directive 80/68/CEE.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31980L0068:FR:HTML>.
 (consulté le 24 avril 2013).
- Directive 91/271/CEE.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31991L0271:FR:HTML>.
 (consulté le 24 avril 2013).
- Directive 91/676/CEE.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31991L0676:FR:HTML>.
 (consulté le 24 avril 2013).
- Directive 98/83/CE.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31998L0083:FR:HTML>.
 (consulté le 24 avril 2013).
- Doong, R., et S. Chang. 2000. « Determination of Distribution Coefficients of Priority Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Solid-Phase Microextraction ». *Analytical Chemistry* 72 (15): 3647-3652.
- DrugBank. <http://www.drugbank.ca/>. (consulté le 21 juin 2013).
- Eaufrance. <http://www.eaufrance.fr/site-156/groupe-de-chiffres-cles/pollution-des-eaux-souterraines>.
 (consulté le 15 juillet 2013).
- El Bakouri, H., A. Aassiri, J. Morillo, J. Usero, M. Khaddor, et A. Ouassini. 2008. « Pesticides and lipids occurrence in Tangier agricultural soil (northern Morocco) ». *Applied Geochemistry* 23 (12): 3487-3497.
- Emelogu, E.S., P. Pollard, C.D. Robinson, F. Smedes, L. Webster, I. W. Oliver, C. McKenzie, T.B. Seiler, H. Hollert, et C.F. Moffat. 2013. « Investigating the significance of dissolved organic contaminants in aquatic environments: Coupling passive sampling with in vitro bioassays ». *Chemosphere* 90 (2): 210-219.
- Ericson, I., M. Nadal, B. Bavel, G. Lindström, et J.L. Domingo. 2008. « Levels of Perfluorochemicals in Water Samples from Catalonia, Spain: Is Drinking Water a Significant Contribution to Human Exposure? » *Environmental Science and Pollution Research* 15 (7): 614-619.
- Escher, B.I., N. Bramaz, J. Lienert, J. Neuwoehner, et J.O. Straub. 2010. « Mixture toxicity of the antiviral drug Tamiflu® (oseltamivir ethylester) and its active metabolite oseltamivir acid ». *Aquatic Toxicology* 96 (3): 194-202.
- Farré, M., S. Pérez, L. Kantiani, et D. Barceló. 2008. « Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 27 (11): 991-1007.
- Fauvelle, V. 2012. « Evaluation de la contamination en pesticides des tributaires du Bassin d'Arcachon et développement d'un échantillonneur passif spécifique des herbicides anioniques ». Thèse de l'université Bordeaux 1.
- Fauvelle, V., N. Mazzella, F. Delmas, K. Madarassou, M. Eon, et H. Budzinski. 2012. « Use of Mixed-Mode Ion Exchange Sorbent for the Passive Sampling of Organic Acids by Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) ». *Environmental Science & Technology* 46 (24): 13344-13353.
- Fedorova, G., O. Golovko, T. Randak, et R. Grabic. 2013. « Passive Sampling of Perfluorinated Acids and Sulfonates Using Polar Organic Chemical Integrative Samplers. » *Environmental Science and Pollution Research International* 20 (3): 1344-1351.

- Fent, K., A.A. Weston, et D. Caminada. 2006. « Ecotoxicology of human pharmaceuticals ». *Aquatic Toxicology* 76 (2): 122-159.
- Fent, K., A. Zenker, et M. Rapp. 2010. « Widespread occurrence of estrogenic UV-filters in aquatic ecosystems in Switzerland ». *Environmental Pollution* 158 (5): 1817-1824.
- Ferrando-Climent, L., N. Collado, G. Buttiglieri, M. Gros, I. Rodriguez-Roda, S. Rodriguez-Mozaz, et D. Barceló. 2012. « Comprehensive study of ibuprofen and its metabolites in activated sludge batch experiments and aquatic environment ». *Science of The Total Environment* 438: 404-413.
- Ferrante, M.C., M.T. Clausi, R. Meli, G. Fusco, C. Naccari, et A. Lucisano. 2010. « Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in European eel (*Anguilla anguilla*) from the Garigliano River (Campania region, Italy) ». *Chemosphere* 78 (6): 709-716.
- Flemming, H.-C., G. Schaule, T. Griebel, J. Schmitt, et A. Tamachkierowa. 1997. « Biofouling—the Achilles heel of membrane processes ». *Desalination* 113 (2-3): 215-225.
- Focazio, M.J., D.W. Kolpin, K.K. Barnes, E.T. Furlong, M.T. Meyer, S.D. Zaugg, L.B. Barber, et M.E. Thurman. 2008. « A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States — II) Untreated drinking water sources ». *Science of The Total Environment* 402 (2-3): 201-216.
- Fromme, H., S.A. Tittlemier, W. Völkel, M. Wilhelm, et D. Twardella. 2009. « Perfluorinated compounds — Exposure assessment for the general population in western countries ». *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 212 (3): 239-270.
- Gabet-Giraud, V. 2009. « Distribution d'estrogènes et de bétabloquants dans les stations d'épuration des eaux résiduaires et dans les eaux de surface ». Thèse de l'université Claude Bernard Lyon 1, numéro d'ordre 275-2009.
- Gellrich, V., T. Stahl, et T.P. Knepper. 2012. « Behavior of perfluorinated compounds in soils during leaching experiments ». *Chemosphere* 87 (9): 1052-1056.
- Gerecke, A.C., M. Schäfer, H.P. Singer, S.R. Müller, R.P. Schwarzenbach, M. Sägesser, U. Ochsenbein, et G. Popow. 2002. « Sources of pesticides in surface waters in Switzerland: pesticide load through waste water treatment plants—current situation and reduction potential ». *Chemosphere* 48 (3): 307-315.
- Gilbert-López, B., L. Jaén-Martos, J.F. García-Reyes, M. Villar-Pulido, L. Polgar, N. Ramos-Martos, et A. Molina-Díaz. 2012. « Study on the occurrence of pesticide residues in fruit-based soft drinks from the EU market and morocco using liquid chromatography–mass spectrometry ». *Food Control* 26 (2): 341-346.
- Gonzalez, J-L, D. Munaron, C. Podeur, N. Tapie, H. Budzinski, N. Maruszczak, N. Montero, et M-J Belzunce. 2012. « Contribution au développement et à l'amélioration des techniques d'échantillonnage passif (DGT et POCIS) ». Rapport Aquaref.
http://www.aquaref.fr/system/files/2011_II-B-01_point2d_%20Dev%20DGT%20POCIS_VF.pdf.
(consulté le 3 septembre 2013).
- Górecki, T., et J. Namieśnik. 2002. « Passive sampling ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 21 (4): 276-291.
- Goula, A.M., M. Kostoglou, T.D. Karapantsios, et A.I. Zouboulis. 2008. « The effect of influent temperature variations in a sedimentation tank for potable water treatment—A computational fluid dynamics study ». *Water Research* 42 (13): 3405-3414.
- Grabic, R., J. Jurcikova, S. Tomsejova, T. Ocelka, J. Halirova, D. Hypr, et V. Kodes. 2010. « Passive sampling methods for monitoring endocrine disruptors in the Svratka and Svitava rivers in the Czech Republic ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (3): 550-555.
- Gyllenhammar, I., L. Holm, R. Eklund, et C. Berg. 2009. « Reproductive toxicity in *Xenopus tropicalis* after developmental exposure to environmental concentrations of ethynylestradiol ». *Amphibian Toxicology* 91 (2): 171-178.
- Harman, C., K.-E. Tollefsen, O. Bøyum, K. Thomas, et M. Grung. 2008. « Uptake rates of alkylphenols, PAHs and carbazoles in semipermeable membrane devices (SPMDs) and polar organic chemical integrative samplers (POCIS) ». *Chemosphere* 72 (10): 1510-1516.
- Harman, C., O. Bøyum, K.V. Thomas, et M. Grung. 2009. « Small but Different Effect of Fouling on the Uptake Rates of Semipermeable Membrane Devices and Polar Organic Chemical Integrative Samplers ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 28 (11): 2324-2332.

- Harman, C., I.J. Allan, et P.S. Bäuerlein. 2011. « The Challenge of Exposure Correction for Polar Passive Samplers--the PRC and the POCIS. » *Environ Sci Technol* 45 (21): 9120-9121.
- Harman, C., S. Brooks, R. C. Sundt, S. Meier, et M. Grung. 2011. « Field comparison of passive sampling and biological approaches for measuring exposure to PAH and alkylphenols from offshore produced water discharges ». *Marine Pollution Bulletin* 63 (5-12): 141-148.
- Harman, C., I.J. Allan, et E. Vermeirssen. 2012. « Calibration and exposure correction methods for the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) ». Conférence présentée    SETAC, Berlin, Allemagne.
- Harman, C., I.J. Allan, et E.L.M. Vermeirssen. 2012. « Calibration and use of the polar organic chemical integrative sampler--a critical review ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 31 (12): 2724-2738.
- Hartmann, A., A.C. Alder, T. Koller, et R.M. Widmer. 1998. « Identification of fluoroquinolone antibiotics as the main source of umuC genotoxicity in native hospital wastewater ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 17 (3): 377-382.
- Heidler, J., et R.U. Halden. 2008. « Meta-Analysis of Mass Balances Examining Chemical Fate during Wastewater Treatment ». *Environmental Science & Technology* 42 (17): 6324-6332.
- Herrero-Hernández, E., M.S. Andr  des, A. Álvarez-Martín, E. Pose-Juan, M.S. Rodríguez-Cruz, et M.J. Sánchez-Martín. 2013. « Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region ». *Journal of Hydrology* 486: 234-245.
- Houhou, J., B.S. Lartiges, A. Hofmann, G. Frappier, J. Ghanbaja, et A. Temgoua. 2009. « Phosphate dynamics in an urban sewer: A case study of Nancy, France ». *Water Research* 43 (4): 1088-1100.
- Hu, C., G. Hermann, S. Pen-Mouratov, L. Shore, et Y. Steinberger. 2011. « Mammalian steroid hormones can reduce abundance and affect the sex ratio in a soil nematode community ». *Agriculture, Ecosystems & Environment* 142 (3-4): 275-279.
- Huckins, J.N., M.W. Tubergen, et G.K. Manuweera. 1990. « Semipermeable membrane devices containing model lipid: A new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration potential ». *Chemosphere* 20 (5): 533-552.
- Huckins, J.N., J.D. Petty, J.A. Lebo, F.V. Almeida, K. Booi, D.A. Alvarez, W.L. Cranor, R.C. Clark, et B.B. Mogensen. 2001. « Development of the Permeability/Performance Reference Compound Approach for In Situ Calibration of Semipermeable Membrane Devices ». *Environmental Science & Technology* 36 (1): 85-91.
- Huerta-Fontela, M., M.T. Galceran, et F. Ventura. 2011. « Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment ». *Water Research* 45 (3): 1432-1442.
- Ibrahim, I., A. Togola, et C. Gonzalez. 2013. « Polar organic chemical integrative sampler (POCIS) uptake rates for 17 polar pesticides and degradation products: laboratory calibration ». *Environmental Science and Pollution Research* 20 (6): 3679-3687.
- Jacquet, R., C. Mi  ge, P. Bados, S. Schiavone, et M. Coquery. 2012. « Evaluating the polar organic chemical integrative sampler for the monitoring of beta-blockers and hormones in wastewater treatment plant effluents and receiving surface waters ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 31 (2): 279-288.
- Jeli  , A., M. Petrovi  , et D. Barceló. 2009. « Multi-residue method for trace level determination of pharmaceuticals in solid samples using pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry ». *Talanta* 80 (1): 363-371.
- Jiang, Y-F., X-T. Wang, Y. Jia, F. Wang, M-H. Wu, G-Y. Sheng, et J-M. Fu. 2009. « Occurrence, distribution and possible sources of organochlorine pesticides in agricultural soil of Shanghai, China ». *Journal of Hazardous Materials* 170 (2-3): 989-997.
- Journal Officiel du 4 septembre 2007.
http://www.legifrance.gouv.fr/jopdf/jopdf/2007/0904/joe_20070904_0204_0144.pdf.
(consulté le 4 septembre 2013).
- Karacik, B., O.S. Okay, B. Henkelmann, G. Pfister, et K.-W. Schramm. 2013. « Water concentrations of PAH, PCB and OCP by using semipermeable membrane devices and sediments ». *Marine Pollution Bulletin* 70 (1-2):258-265

- Kaserzon, S.L., K. Kennedy, D.W. Hawker, J. Thompson, S. Carter, A.C. Roach, K. Booij, et J.F. Mueller. 2012. « Development and Calibration of a Passive Sampler for Perfluorinated Alkyl Carboxylates and Sulfonates in Water ». *Environmental Science & Technology* 46 (9): 4985-4993.
- Kaserzon, S.L., E.L.M. Vermeirssen, D.W. Hawker, K. Kennedy, C. Bentley, J. Thompson, K. Booij, et J.F. Mueller. 2013. « Passive sampling of perfluorinated chemicals in water: Flow rate effects on chemical uptake ». *Environmental Pollution* 177: 58-63.
- Key, B.D., R.D. Howell, et C.S. Criddle. 1997. « Fluorinated Organics in the Biosphere ». *Environmental Science & Technology* 31 (9): 2445-2454.
- Kidd, K.A., P.J. Blanchfield, K.H. Mills, V.P. Palace, R.E. Evans, J.M. Lazorchak, et R.W. Flick. 2007. « Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 (21): 8897-8901.
- Kingston, J.K., R. Greenwood, G.A. Mills, G.M. Morrison, et L.B. Persson. 2000. « Development of a novel passive sampling system for the time-averaged measurement of a range of organic pollutants in aquatic environments ». *Journal of Environmental Monitoring* 2 (5): 487-495.
- Kleywegt, S., V. Pileggi, P. Yang, C. Hao, X. Zhao, C. Rocks, S. Thach, P. Cheung, et B. Whitehead. 2011. « Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished drinking water in Ontario, Canada — Occurrence and treatment efficiency ». *Science of The Total Environment* 409 (8): 1481-1488.
- Kolpin, D.W., E.T. Furlong, M.T. Meyer, E.M. Thurman, S.D. Zaugg, L.B. Barber, et H.T. Buxton. 2002. « Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance ». *Environmental Science & Technology* 36 (6): 1202-1211.
- Konstantinou, I.K., D.G. Hela, et T.A. Albanis. 2006. « The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. Part I. Review on occurrence and levels ». *Environmental Pollution* 141 (3): 555-570.
- Kot, A., B. Zabiegała, et J. Namieśnik. 2000. « Passive sampling for long-term monitoring of organic pollutants in water ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 19 (7): 446-459.
- Kumar, A., R. Correll, S. Grocke, et C. Bajet. 2010. « Toxicity of selected pesticides to freshwater shrimp, *Paratya australiensis* (Decapoda: Atyidae): Use of time series acute toxicity data to predict chronic lethality ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73 (3): 360-369.
- Labadie, P., K. Tlili, F. Alliot, M. Blanchard, C. Bourges, A. Desportes, M-J Teil, et M. Chevreuil. 2010. « Bioaccumulation des contaminants organiques par les poissons : exemple de l'Orge et de la Seine ». PIREN-Seine Phase V - Rapport de synthèse 2007-2010.
- Labadie, P., et M. Chevreuil. 2011. « Biogeochemical dynamics of perfluorinated alkyl acids and sulfonates in the River Seine (Paris, France) under contrasting hydrological conditions ». *Environmental Pollution* 159 (12): 3634-3639.
- Lapworth, D.J., N. Baran, M.E. Stuart, et R.S. Ward. 2012. « Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence ». *Environmental Pollution* 163: 287-303.
- Lardy-Fontan, S. 2008. « Les substances émergentes dans les écosystèmes aquatiques français, une application aux alkylphénols polyéthoxylés et aux substances pharmaceutiques ». Thèse de l'université Bordeaux 1 - numéro d'ordre 3702.
- Latała, A., M. Nędzi, et P. Stepnowski. 2009. « Acute toxicity assessment of perfluorinated carboxylic acids towards the Baltic microalgae ». *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28 (2): 167-171.
- Lau, C., K. Anitole, C. Hodes, D. Lai, A. Pfahles-Hutchens, et J. Seed. 2007. « Perfluoroalkyl Acids: A Review of Monitoring and Toxicological Findings ». *Toxicological Sciences* 99 (2): 366-394.
- Launder, B.E., et D.B. Spalding. 1972. *Lectures in Mathematical Models of Turbulence*. Academic Press. London.
- Lebo, J.A., F.V. Almeida, W.L. Cranor, J.D. Petty, J.N. Huckins, A. Rastall, D.A. Alvarez, B.B. Mogensen, et B.T. Johnson. 2004. « Purification of triolein for use in semipermeable membrane devices (SPMDs) ». *Chemosphere* 54 (8): 1217-1224.
- Li, H., P.A. Helm, et C.D. Metcalfe. 2010a. « Sampling in the Great Lakes for pharmaceuticals, personal care products, and endocrine-disrupting substances using the passive polar organic chemical integrative sampler ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (4): 751-762.

- Li, H., E.L.M. Vermeirssen, P.A. Helm, et C.D. Metcalfe. 2010b. « Controlled field evaluation of water flow rate effects on sampling polar organic compounds using polar organic chemical integrative samplers ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (11): 2461-2469.
- Li, H., P.A. Helm, G. Paterson, et C.D. Metcalfe. 2011. « The effects of dissolved organic matter and pH on sampling rates for polar organic chemical integrative samplers (POCIS) ». *Chemosphere* 83 (3): 271-280.
- Lindstrom, A.B., M.J. Strynar, et E. L. Libelo. 2011. « Polyfluorinated Compounds: Past, Present, and Future ». *Environmental Science & Technology* 45 (19): 7954-7961.
- Liscio, C., E. Magi, M. Di Carro, M.J.-F. Suter, et E.L.M. Vermeirssen. 2009. « Combining passive samplers and biomonitoring to evaluate endocrine disrupting compounds in a wastewater treatment plant by LC/MS/MS and bioassay analyses ». *Environmental Pollution* 157 (10): 2716-2721.
- Lissalde, S., N. Mazzella, V. Fauvelle, F. Delmas, P. Mazellier, et B. Legube. 2011. « Liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method for thirty-three pesticides in natural water and comparison of performance between classical solid phase extraction and passive sampling approaches ». *Journal of Chromatography A* 1218 (11): 1492-1502.
- Lobpreis, T., B. Vrana, E. Dominiak, K. Dercová, G.A. Mills, et R. Greenwood. 2008. « Effect of housing geometry on the performance of ChemcatcherTM passive sampler for the monitoring of hydrophobic organic pollutants in water ». *Environmental Pollution* 153 (3): 706-710.
- Lode, O., O.M. Eklo, B. Holen, A. Svensen, et A.M. Johnsen. 1995. « Pesticides in precipitation in Norway ». *Science of The Total Environment* 160-161: 421-431.
- Loi n° 64-1245 du 16 décembre 1964.
<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000006068236>.
(consulté le 24 avril 2013).
- Loos, R., B.M. Gawlik, G. Locoro, E. Rimaviciute, S. Contini, et G. Bidoglio. 2009. « EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters ». *Environmental Pollution* 157 (2): 561-568.
- Loos, R., G. Locoro, S. Comero, S. Contini, D. Schwesig, F. Werres, P. Balsaa, et al. 2010. « Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water ». *Water Research* 44 (14): 4115-4126.
- López-Serna, R., M. Petrović, et D. Barceló. 2012. « Occurrence and distribution of multi-class pharmaceuticals and their active metabolites and transformation products in the Ebro River basin (NE Spain) ». *Science of The Total Environment* 440: 280-289.
- MacLeod, S.L., E.L. McClure, et C.S. Wong. 2007. « Laboratory calibration and field deployment of the Polar organic chemical integrative sampler for pharmaceuticals and personal care products in wastewater and surface water ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 26 (12): 2517-2529.
- Mai, C., N. Theobald, G. Lammel, et H. Hühnerfuss. 2013. « Spatial, seasonal and vertical distributions of currently-used pesticides in the marine boundary layer of the North Sea ». *Atmospheric Environment* 75: 92-102.
- Mak, Y.L., S. Taniyasu, L.W.Y. Yeung, G. Lu, L. Jin, Y. Yang, P.K.S. Lam, K. Kannan, et N. Yamashita. 2009. « Perfluorinated Compounds in Tap Water from China and Several Other Countries ». *Environmental Science & Technology* 43 (13): 4824-4829.
- Martin, J.W., K. Kannan, U. Berger, P. De Voogt, J. Field, J. Franklin, J.P. Giesy, et al. 2004. « Analytical Challenges Hamper Perfluoroalkyl Research ». *Environmental Science & Technology* 38 (13): 248A-255A.
- Martínez Bueno, M.J., M.D. Hernando, A. Agüera, et A.R. Fernández-Alba. 2009. « Application of passive sampling devices for screening of micro-pollutants in marine aquaculture using LC-MS/MS ». *Talanta* 77 (4): 1518-1527.
- Matthiessen, P., D. Arnold, A.C. Johnson, T.J. Pepper, T.G. Pottinger, et K.G.T. Pulman. 2006. « Contamination of headwater streams in the United Kingdom by oestrogenic hormones from livestock farms ». *Science of The Total Environment* 367 (2-3): 616-630.
- Mazzella, N., J-F. Dubernet, et F. Delmas. 2007. « Determination of kinetic and equilibrium regimes in the operation of polar organic chemical integrative samplers: Application to the passive sampling of the polar herbicides in aquatic environments ». *Journal of Chromatography A* 1154 (1-2): 42-51.

- Mazzella, N., T. Debenest, et F. Delmas. 2008. « Comparison between the polar organic chemical integrative sampler and the solid-phase extraction for estimating herbicide time-weighted average concentrations during a microcosm experiment ». *Chemosphere* 73 (4): 545-550.
- Mazzella, N., S. Lissalde, S. Moreira, F. Delmas, P. Mazellier, et J.N. Huckins. 2010. « Evaluation of the Use of Performance Reference Compounds in an Oasis-HLB Adsorbent Based Passive Sampler for Improving Water Concentration Estimates of Polar Herbicides in Freshwater ». *Environmental Science & Technology* 44 (5): 1713-1719.
- Miège, C., J.M. Choubert, L. Ribeiro, M. Eusèbe, et M. Coquery. 2009a. « Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants – Conception of a database and first results ». *Science of The Total Environment* 157 (5): 1721-1726.
- Miège, C., V. Gabet, M. Coquery, S. Karolak, M.-L. Jugan, L. Oziol, Y. Levi, et M. Chevreuil. 2009b. « Evaluation of estrogenic disrupting potency in aquatic environments and urban wastewaters by combining chemical and biological analysis ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 28 (2): 186-195.
- Miège, C., H. Budzinski, R. Jacquet, C. Soulier, T. Pelte, et M. Coquery. 2012. « Polar organic chemical integrative sampler (POCIS): application for monitoring organic micropollutants in wastewater effluent and surface water ». *Journal of Environmental Monitoring* 14 (2): 626-635.
- Monteyne, E., P. Roose, et C.R. Janssen. 2013. « Application of a silicone rubber passive sampling technique for monitoring PAHs and PCBs at three Belgian coastal harbours ». *Chemosphere* 91 (3): 390-398.
- Morin, N., C. Miège, M. Coquery, et J. Randon. 2012. « Chemical calibration, performance, validation and applications of the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) in aquatic environments ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 36: 144-175.
- Morin, N., J. Camilleri, C. Cren-Olivé, M. Coquery, et C. Miège. 2013. « Determination of uptake kinetics and sampling rates for 56 organic micropollutants using “pharmaceutical” POCIS ». *Talanta* 109: 61-73.
- Morin, S., M. Bottin, N. Mazzella, F. Macary, F. Delmas, P. Winterton, et M. Coste. 2009. « Linking diatom community structure to pesticide input as evaluated through a spatial contamination potential (Phytopyxal): A case study in the Neste river system (South-West France) ». *Aquatic Toxicology* 94 (1): 28-39.
- Moussaoui, Y., L. Tuduri, Y. Kerchich, B.Y. Meklati, et G. Eppe. 2012. « Atmospheric concentrations of PCDD/Fs, dl-PCBs and some pesticides in northern Algeria using passive air sampling ». *Chemosphere* 88 (3): 270-277.
- Mrema, E.J., F.M. Rubino, G. Brambilla, A. Moretto, A.M. Tsatsakis, et Claudio Colosio. 2012. « Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity ». *Toxicology* 307: 74-88.
- Muller, M., F. Rabenoelina, P. Balaguer, D. Patureau, K. Le Menach, H. Budzinski, D. Barceló, et al. 2008. « Chemical and biological analysis of endocrine-disrupting hormones and estrogenic activity in an advanced sewage treatment plant ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 (8): 1649-1658.
- Muller, M., S. Combalbert, N. Delgenès, V. Bergheaud, V. Rocher, P. Benoît, J-P. Delgenès, D. Patureau, et G. Hernandez-Raquet. 2010. « Occurrence of estrogens in sewage sludge and their fate during plant-scale anaerobic digestion ». *Chemosphere* 81 (1): 65-71.
- Munaron, D., N. Tapie, H. Budzinski, B. Andral, et J-L. Gonzalez. 2012. « Pharmaceuticals, alkylphenols and pesticides in Mediterranean coastal waters: Results from a pilot survey using passive samplers ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 114: 82-92.
- Nałęcz-Jawecki, G., T. Wójcik, et J. Sawicki. 2008. « Evaluation of in vitro biotransformation of propranolol with HPLC, MS/MS, and two bioassays ». *Environmental Toxicology* 23 (1): 52-58.
- Nieto, A., F. Borrell, E. Pocurull, et R.M. Marcé. 2008. « Determination of natural and synthetic estrogens and their conjugates in sewage sludge by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A* 1213 (2): 224-230.
- NORMAN Network
http://www.norman-network.net/index_php.php?module=public/about_us/emerging&menu2=public/about_us/about_us. (consulté le 19 août 2013)
- Norme NF T90-210. AFNOR.
- Norme NF T90-40. AFNOR.

Norme NF EN ISO 5667-23. AFNOR

Nougadère, A., J-C. Reninger, J-L. Volatier, et J-C. Leblanc. 2011. « Chronic dietary risk characterization for pesticide residues: A ranking and scoring method integrating agricultural uses and food contamination data ». *Food and Chemical Toxicology* 49 (7): 1484-1510.

O'Brien, D.S., B. Chiswell, et J.F. Mueller. 2009. « A novel method for the in situ calibration of flow effects on a phosphate passive sampler ». *Journal of Environmental Monitoring* 11 (1): 212-219.

Observatoire des Résidus de Pesticides.

<http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/>. (consulté le 17 avril 2013).

Ormad, M.P., N. Miguel, A. Claver, J.M. Matesanz, et J.L. Ovelleiro. 2008. « Pesticides removal in the process of drinking water production ». *Chemosphere* 71 (1): 97-106.

Ouyang, G., et J. Pawliszyn. 2007. « Configurations and calibration methods for passive sampling techniques ». *Journal of Chromatography A* 1168 (1-2): 226-235.

Pawlowski, S., R. van Aerle, C.R. Tyler, et T. Braunbeck. 2004. « Effects of 17 α -ethinylestradiol in a fathead minnow (*Pimephales promelas*) gonadal recrudescence assay ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57 (3): 330-345.

Petrović, M., S. Gonzalez, et D. Barceló. 2003. « Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 22 (10): 685-696.

Petty, J.D., C.E. Orazio, J.N. Huckins, R.W. Gale, J.A. Lebo, J.C. Meadows, K.R. Echols, et W.L. Cranor. 2000. « Considerations involved with the use of semipermeable membrane devices for monitoring environmental contaminants ». *Journal of Chromatography A* 879 (1): 83-95.

Petty, J.D., J.N. Huckins, D.A. Alvarez. 2002. "Device for sequestration and concentration of polar organic chemicals from water". United States Patent (US 6,478,961 B2).

Petty, J.D., J.N. Huckins, D.A. Alvarez, W.G. Brumbaugh, W.L. Cranor, R.W. Gale, A.C. Rastall, et al. 2004. « A holistic passive integrative sampling approach for assessing the presence and potential impacts of waterborne environmental contaminants ». *Chemosphere* 54 (6): 695-705.

Plan Micropolluants 2010-2013.

http://www.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/plan_micropolluants_dv.pdf.

(consulté le 5 août 2013).

Pomati, F., S. Castiglioni, E. Zuccato, R. Fanelli, D. Vigetti, C. Rossetti, et D. Calamari. 2006. « Effects of a Complex Mixture of Therapeutic Drugs at Environmental Levels on Human Embryonic Cells ». *Environmental Science & Technology* 40 (7): 2442-2447.

Poulier, G. 2013. « Interest of passive sampling to improve Water Framework Directive monitoring network: Example of 40 polar pesticides monitoring by POCIS on an agricultural watershed in France ». Conférence présentée à International Passive Sampling Workshop and Symposium, Bordeaux, France.

Prokeš, R., B. Vrana, et J. Klánová. 2012. « Levels and distribution of dissolved hydrophobic organic contaminants in the Morava river in Zlín district, Czech Republic as derived from their accumulation in silicone rubber passive samplers ». *Environmental Pollution* 166: 157-166.

PubChem. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. (consulté le 21 juin 2013).

Ratola, N., A. Cincinelli, A. Alves, et A. Katsoyiannis. 2012. « Occurrence of organic microcontaminants in the wastewater treatment process. A mini review ». *Journal of Hazardous Materials* 239-240: 1-18.

REACH - enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des produits chimiques. http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/reach/index_fr.htm. (consulté le 8 août 2013).

Refsdal, A.O. 2000. « To treat or not to treat: a proper use of hormones and antibiotics ». *Animal Reproduction Science* 60-61: 109-119.

Richardson, B.J., P.K.S. Lam, G.J. Zheng, K.E. McClellan, et S.B. De Luca-Abbott. 2002. « Biofouling confounds the uptake of trace organic contaminants by semi-permeable membrane devices (SPMDs) ». *Marine Pollution Bulletin* 44 (12): 1372-1379.

Rodea-Palomares, I., F. Leganés, R. Rosal, et F. Fernández-Piñas. 2012. « Toxicological interactions of perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) with selected pollutants ». *Journal of Hazardous Materials* 201-202: 209-218.

- Rodriguez-Mozaz, S., M.J. López de Alda, et D. Barceló. 2004. « Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction–liquid chromatography–mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A* 1045 (1–2): 85–92.
- RSDE. <http://www.ineris.fr/rsde/>. (consulté le 24 avril 2013)
- Rusina, T.P., F. Smedes, J. Klanova, K. Booi, et I. Holoubek. 2007. « Polymer selection for passive sampling: A comparison of critical properties ». *Chemosphere* 68 (7) : 1344–1351.
- Rusina, T.P. 2009. « New methods of sampling and sample pre-concentration of hydrophobic compounds in aquatic ecosystems - Magnifying passive sampling aspects ». Thèse de Masaryk University, République Tchèque.
- Schäfer, R.B., A. Paschke, B. Vrana, R. Mueller, et M. Liess. 2008. « Performance of the Chemcatcher® passive sampler when used to monitor 10 polar and semi-polar pesticides in 16 Central European streams, and comparison with two other sampling methods ». *Water Research* 42 (10–11): 2707–2717.
- Scheyer, A., C. Graeff, S. Morville, P. Mirabel, et M. Millet. 2005. « Analysis of some organochlorine pesticides in an urban atmosphere (Strasbourg, east of France) ». *Chemosphere* 58 (11): 1517–1524.
- Schmitt, P., A.W. Garrison, D. Freitag, et A. Kettrup. 1996. « Separation of s-triazine herbicides and their metabolites by capillary zone electrophoresis as a function of pH ». *Journal of Chromatography A* 723 (1): 169–177.
- Seethapathy, S., T. Górecki, et X. Li. 2008. « Passive sampling in environmental analysis ». *Journal of Chromatography A* 1184 (1–2): 234–253.
- Seurin, S., F. Rouget, J-C. Reninger, N. Gillot, C. Loynet, S. Cordier, L. Multigner, J-C. Leblanc, J-L. Volatier, et F. Héraud. 2012. « Dietary exposure of 18-month-old Guadeloupian toddlers to chlordecone ». *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 63 (3): 471–479.
- Shegunova, P., J. Klánová, et I. Holoubek. 2007. « Residues of organochlorinated pesticides in soils from the Czech Republic ». *Environmental Pollution* 146 (1): 257–261.
- Sinclair, E., et K. Kannan. 2006. « Mass Loading and Fate of Perfluoroalkyl Surfactants in Wastewater Treatment Plants ». *Environmental Science & Technology* 40 (5): 1408–1414.
- Singer, H., S. Jaus, I. Hanke, A. Lück, J. Hollender, et A.C. Alder. 2010. « Determination of biocides and pesticides by on-line solid phase extraction coupled with mass spectrometry and their behaviour in wastewater and surface water ». *Environmental Pollution* 158 (10): 3054–3064.
- Skutlarek, D., M. Exner, et H. Färber. 2006. « Perfluorinated surfactants in surface and drinking waters ». *Environmental Science and Pollution Research* 13 (5): 299–307.
- Söderström, H., R.H. Lindberg, et J. Fick. 2009. « Strategies for monitoring the emerging polar organic contaminants in water with emphasis on integrative passive sampling ». *Journal of Chromatography A* 1216 (3): 623–630.
- Soulier, C., N. Abou Mrad, A. Belles, et H. Budzinski. 2011. « Accumulation of Alkylphenol polyethoxylates (APnEOs) in standard POCIS and POCIS-like ». Poster présenté à International Passive Sampling Workshop and Symposium, Cracovie, Pologne.
- Soulier, C. 2012. « Présence et devenir des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques dans les effluents ». Thèse de l'université Bordeaux 1 - numéro d'ordre 4638.
- Stephens, B.S., et J.F. Müller. 2007. « Techniques for quantitatively evaluating aquatic passive sampling devices ». In *Passive sampling techniques in environmental monitoring*. Vol. 48. Comprehensive Analytical Chemistry. D. Barcelo.
- Stuer-Lauridsen, F., et J. Kjølholt. 2000. « Identification of selected hydrophobic organic contaminants in wastewater with semipermeable membrane devices (SPMDs) ». *Water Research* 34 (13): 3478–3482.
- Stuer-Lauridsen, F. 2005. « Review of passive accumulation devices for monitoring organic micropollutants in the aquatic environment ». *Environmental Pollution* 136 (3): 503–524.
- Syed, J.H., R.N. Malik, D. Liu, Y. Xu, Y. Wang, J. Li, G. Zhang, et K.C. Jones. 2013. « Organochlorine pesticides in air and soil and estimated air–soil exchange in Punjab, Pakistan ». *Science of The Total Environment* 444: 491–497.

- Tapie, N., M.H. Devier, C. Soulier, N. Creusot, K. Le Menach, S. Aït-Aïssa, B. Vrana, et H. Budzinski. 2011. « Passive samplers for chemical substances monitoring and associated toxicity assessment in water ». *Water Science and Technology* 63 (10): 2418-2426.
- Tavazzi, S., G. Locoro, S. Comero, E. Sobiecka, R. Loos, O. Gans, M. Ghiani, et al. 2012. « Occurrence and levels of selected compounds in European sewage sludge samples ». http://ec.europa.eu/dgs/jrc/downloads/jrc76111_lb_na_25598_en_n.pdf. (consulté le 4 septembre 2013).
- Thomas, K.V., T.W. Fileman, J.W. Readman, et M.J. Waldock. 2001. « Antifouling Paint Booster Biocides in the UK Coastal Environment and Potential Risks of Biological Effects ». *Marine Pollution Bulletin* 42 (8): 677-688.
- Thompson, J., G. Eaglesham, et J. Mueller. 2011. « Concentrations of PFOS, PFOA and other perfluorinated alkyl acids in Australian drinking water ». *Chemosphere* 83 (10): 1320-1325.
- Togola, A., et H. Budzinski. 2007. « Development of Polar Organic Integrative Samplers for Analysis of Pharmaceuticals in Aquatic Systems ». *Analytical Chemistry* 79 (17): 6734-6741.
- Travlos, I.S., C.N. Giannopolitis, et G. Economou. 2011. « Diclofop resistance in sterile wild oat (*Avena sterilis* L.) in wheat fields in Greece and its management by other post-emergence herbicides ». *Crop Protection* 30 (11): 1449-1454.
- UIPP, Union des Industries de la Protection des Plantes .
<http://www.uipp.org/>. (consulté le 17 avril 2013).
- USEPA. 2010/2015 PFOA Stewardship Program.
<http://www.epa.gov/oppt/pfoa/pubs/stewardship/>. (consulté le 8 juillet 2013).
- Vallejo, A., A. Prieto, M. Moeder, A. Usobiaga, O. Zuloaga, N. Etxebarria, et A. Paschke. 2013. « Calibration and field test of the Polar Organic Chemical Integrative Samplers for the determination of 15 endocrine disrupting compounds in wastewater and river water with special focus on performance reference compounds (PRC) ». *Water Research* 47 (8): 2851-2862.
- Vazquez-Roig, P., V. Andreu, C. Blasco, et Y. Picó. 2012. « Risk assessment on the presence of pharmaceuticals in sediments, soils and waters of the Pego-Oliva Marshlands (Valencia, eastern Spain) ». *Science of The Total Environment* 440: 24-32.
- Vermeirssen, E.L.M., O. Körner, R. Schönenberger, et P. Burkhardt-Holm. 2005. « Characterization of Environmental Estrogens in River Water Using a Three Pronged Approach: Active and Passive Water Sampling and the Analysis of Accumulated Estrogens in the Bile of Caged Fish ». *Environmental Science & Technology* 39 (21): 8191-8198.
- Vermeirssen, E.L.M., C. Dietschweiler, B.I. Escher, J. van der Voet, et J. Hollender. 2012. « Transfer Kinetics of Polar Organic Compounds over Polyethersulfone Membranes in the Passive Samplers POCIS and Chemcatcher ». *Environmental Science & Technology* 46 (12): 6759-6766.
- Verweij, F., K. Booij, K. Satumalay, N. van der Molen, et R. van der Oost. 2004. « Assessment of bioavailable PAH, PCB and OCP concentrations in water, using semipermeable membrane devices (SPMDs), sediments and caged carp ». *Chemosphere* 54 (11): 1675-1689.
- Vrana, B., I.J. Allan, R. Greenwood, G.A. Mills, E. Dominiak, K. Svensson, J. Knutsson, et G. Morrison. 2005. « Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 24 (10): 845-868.
- Vrana, B., G.A. Mills, E. Dominiak, et R. Greenwood. 2006. « Calibration of the Chemcatcher passive sampler for the monitoring of priority organic pollutants in water ». *Environmental Pollution* 142 (2): 333-343.
- Vrana, B., G.A. Mills, M. Kotterman, P. Leonards, K. Booij, et R. Greenwood. 2007. « Modelling and field application of the Chemcatcher passive sampler calibration data for the monitoring of hydrophobic organic pollutants in water ». *Environmental Pollution* 145 (3): 895-904.
- Vrana, B., F. Smedes, R. Prokeš, et R. Loos. 2012. « NORMAN Interlaboratory study (ILS) on passive sampling of emerging pollutants ».
- Vulliet, E., et C. Cren-Olivé. 2011. « Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption ». *Environmental Pollution* 159 (10): 2929-2934.

- Wang, J., Y. Bi, G. Pfister, B. Henkelmann, K. Zhu, et K-W. Schramm. 2009. « Determination of PAH, PCB, and OCP in water from the Three Gorges Reservoir accumulated by semipermeable membrane devices (SPMD) ». *Chemosphere* 75 (8): 1119-1127.
- Waters. <http://www.waters.com>. (consulté le 21 mai 2013).
- Wei, Y., X. Shi, H. Zhang, J. Wang, B. Zhou, et J. Dai. 2009. « Combined effects of polyfluorinated and perfluorinated compounds on primary cultured hepatocytes from rare minnow (*Gobiocypris rarus*) using toxicogenomic analysis ». *Aquatic Toxicology* 95 (1): 27-36.
- Xu, D., C. Li, Y. Wen, et W. Liu. 2013. « Antioxidant defense system responses and DNA damage of earthworms exposed to Perfluorooctane sulfonate (PFOS) ». *Environmental Pollution* 174: 121-127.
- Yang, J-F., G-G. Ying, J-L. Zhao, R. Tao, H-C. Su, et F. Chen. 2010. « Simultaneous determination of four classes of antibiotics in sediments of the Pearl Rivers using RRLC-MS/MS ». *Science of The Total Environment* 408 (16): 3424-3432.
- Zareitalabad, P., J. Siemens, M. Hamer, et W. Amelung. 2013. « Perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) in surface waters, sediments, soils and wastewater – A review on concentrations and distribution coefficients ». *Chemosphere* 91 (6): 725-732.
- Zhang, Z., A. Hibberd, et J. L. Zhou. 2008. « Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling ». *Analytica Chimica Acta* 607 (1): 37-44.

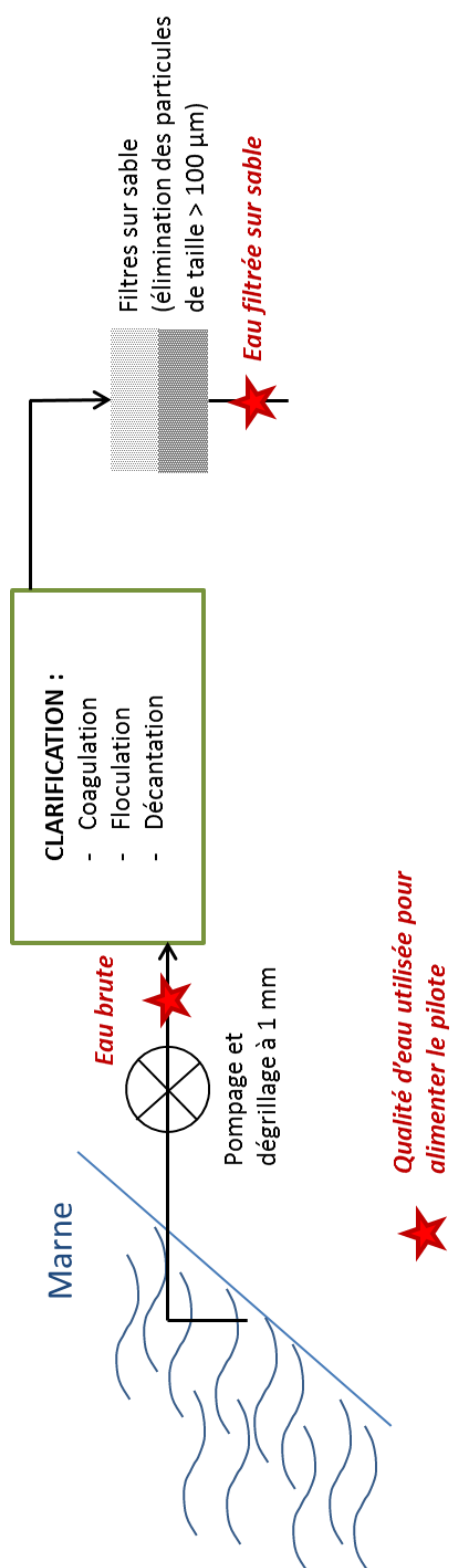
Annexes

Annexe 1 : filière de potabilisation et qualités d'eau utilisées sur le pilote (essais en eau de surface)

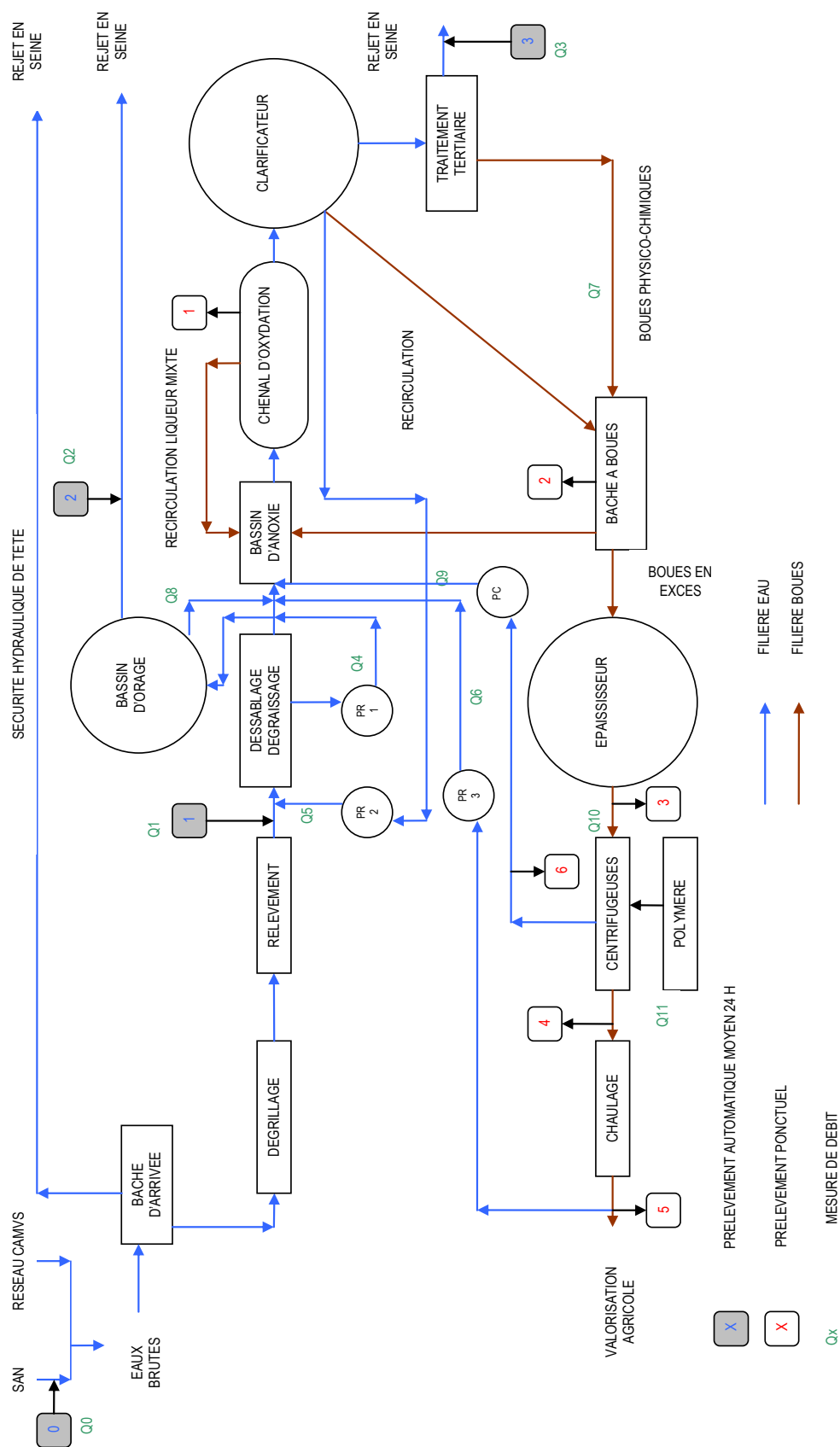
Annexe 2 : schéma synoptique du site A

Annexe 3 : schéma synoptique du site B

Annexe 1 : Filière de potabilisation et qualités d'eau utilisées sur le pilote (essais en eau de surface)



Annexe 2 : Schéma synoptique du site A



Annexe 3 : Schéma synoptique du site B

